

**APORTES PARA EL CONOCIMIENTO DE ACEITE MARIA
(*Calophyllum brasiliense* Cambess) ESPECIE CON USO AGROFORESTACION
PRIORIDAD DE CONSERVACIÓN LOCAL
EN EL CORREGIMIENTO DEL BAJO CALIMA
MUNICIPIO DE BUENAVENTURA
(VALLE D EL CAUCA)**

CARLOS JULIO CAICEDO RODRÍGUEZ.

**UNIVERSIDAD DEL PACÍFICO
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS
AGRONOMÍA
BUENAVENTURA
2009**

**APORTES PARA EL CONOCIMIENTO DE ACEITE MARIA
(*Calophyllum brasiliense* Cambess) ESPECIE CON USO AGROFORESTCON
PRIORIDAD DE CONSERVACIÓN LOCAL
EN EL CORREGIMIENTO DEL BAJO CALIMA
MUNICIPIO DE BUENAVENTURA
(VALLE D EL CAUCA)**

CARLOS JULIO CAICEDO RODRÍGUEZ.
Trabajo de grado como requisito parcial para optar por el título
de Agrónomo

Director:
ROBERT TULIO GONZÁLEZ
Director del programa de Agronomía

Tutor:
María Elena Anguío

**UNIVERSIDAD DEL PACÍFICO
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS
AGRONOMÍA
BUENAVENTURA
2009**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi señora madre AYDA LUZ RODRIGUEZ, quien con tanto esfuerzo y sacrificio, logro sacarme adelante, valorando toda esa jerarquía y fortaleza de toda una madre soltera.

A mi hermana MABY CECILIA CAICEDO RODRIGUEZ, quien con sus enseñanzas y su manera de poder expresar sus ideas u opiniones logró ayudarme a sujetar de aquella sogá y nunca darme por vencido.

A mi tía POLA ACHITO y mi padrino CLODOMIRO LOPEZ quienes con sus concejos, enseñanzas y sacrificios también lograron guiarme por aquel camino que un día me fue difícil, diciéndome a diario que con la ayuda de Dios podré salir adelante.

Por último y principalmente en toda mi vida hago también esta dedicatoria a mi padre CARLOS JULIO CAICEDO HURTADO, aunque te fuiste sin poder decirnos adiós siempre pude sentir tu apoyo, tu cariño y todo tu amor en cada uno de esos momentos que quise soltarme de aquella sogá y pude sentir tu presencia y tu voz diciéndome no lo hagas hijo, se fuerte que tu padre siempre estará contigo, tu alma, tu voz y tus manos fueron las causantes de que este sueño fuera toda una realidad.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis más sinceros agradecimientos a:

LUIS TEOFILO CALDAS CABEZA, quien ha sido un apoyo emocional en toda esta trayectoria y un gran amigo con quien pude contar.

MIRIAN FRANCO, quien con su nobleza y su grandioso Corazón logro brindarme esa confianza y ese amor que solamente una madre sabe brindarlo.

GERMAN ALVAREZ, quien fue unas de las personas en ayudarme a despertar aquella confianza intelectual que en algunos momentos me fue difícil hallarla y aunque no se encuentre en estos momentos, de todo Corazón quisiera decirle muchas gracias.

CARLOS PATIÑO, profesor, compañero y considerable amigo, gracias por ayudarme y por confiar en mí.

A mis más fieles amigos de infancia y de tan satisfactoria trayectoria en el transcurso de mi carrera, quisiera decirles GRACIAS, GRACIAS Y GRACIAS.

CONTENIDO

Pag.

	DEDICATORIA	
	AGRADECIMIENTOS	
	TABLA DE CONTENIDO	
	LISTA DE TABLAS	
	LISTA DE FIGURAS	
	LISTA DE GRAFICAS	
	LISTA DE ANEXOS	
	RESUMEN	
	ABSTRAC	
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	5
2.1	GENERALIDADES DE LA FAMILIA <i>CLUSIACEAE</i>	5
2.1.1	GENERO <i>CALOPHYLLUM</i>	5
2.1.1.1	Taxonomía de <i>Calophyllum</i>	6
2.1.2	<i>Calophyllum brasiliense</i> (Aceite maria)	8
2.1.2.1	Distintivos de la especie <i>Calophyllum brasiliense</i>	9
2.1.2.2	Bondades de <i>Calophyllum brasiliense</i>	10
2.2	USO E IMPORTANCIA ECOLÓGICA, FARMACOLÓGICA O MEDICINAL	10
2.3	SUPERVIVENCIA DE <i>Calophyllum brasiliense</i>	12
2.4	COMERCIALIZACION	13
3.	METODOLOGIA	14
3.1	FASE DE CAMPO	14
3.1.1	Prospección del área para la recolección de los materiales	14
3.1.2	Recolección del material vegetal (hojarascas y raíces)	14
3.1.3	Colecta de hojas de tres especies del genero <i>Calophyllum</i>	15
3.2	FASE DE LABORATORIO	15
3.2.1	Método de impresión de células	15
3.3.	Tinción de raíces	15
3.4.	Elaboración del extracto	16
3.4.1	Secado y selección del material	16
3.4.2	Trituración del material	16
3.4.3	Macerado y almacenaje del extracto	16
3.4.4	Estandarización del extracto etanolico	17
3.4.5	Establecimiento del bioensayo	17

4.	DISEÑO EXPERIMENTAL	18
5.	RESULTADOS	19
6.	DISCUSIÓN	28
7.	CONCLUSIONES	32
8.	RECOMENDACIONES	33
	BIBLIOGRAFÍAS	
	ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Registro promedio mensual de las plantas de aceite maria	19
Tabla 2. Variables morfológicas de <i>Calophyllum brasiliense</i>	21
Tabla 3. Anova para semillas germinadas en promedio	25
Tabla 4. Media de número de semillas germinadas a diferentes concentraciones del extracto etanolico de hojas secas de <i>Calophyllum brasiliense</i>	25
Tabla 5. Anova para la longitud de la radícula	27
Tabla 6. Media longitud de la radícula de <i>Lactuca sativa</i> sobre el efecto inhibitorio del extracto etanolico de las hojarasca de <i>Calophyllum brasiliense</i>	28

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Mapa de distribución de <i>C. brasiliense</i> . Tomado de Trópico (Base de datos del Missouri Botanical Garden)	7
Figura 2. Distribución de <i>C. longifolius</i> del Herbario Nacional de la Universidad Nacional de Colombia (COL)	8
Figura 3. Plantas de <i>Calophyllum calaba</i> del vivero de la Universidad del Pacífico, Municipio de Buenaventura.	8
Figura 4. Altura de la Planta #2 en el mes de Diciembre	19
Figura 5. Comparaciones entre las hojas y cortes histológicos en la parte superior de las especies del género <i>Calophyllum</i> .	22
Figura 6. Distribucion entre los laticiferos y diferencia entre los entomas entre las especies de <i>Calophyllum</i> (<i>C. brasiliense</i> , <i>C. longifolium</i> y <i>C. calaba</i>)	23
Figura 7. Hifas extra e intrarradicales <i>C. brasiliense</i>	24
Figura 8. Hifas intrarradicales observadas en el microscopio a 40x	24

LISTA DE GRAFICAS

		Pág.
Grafica 1.	Registro promedio de la altura de las plántulas de Aceite maría	20
Grafica 2.	Número de hojas en promedio para las plántulas de Aceite maría	21
Grafica 3.	Porcentajes en promedio de semillas germinadas a diferentes concentraciones del extracto etanolico	26
Grafica 4.	Longitud promedio de la radícula de <i>Lactuca sativa</i> en relación con las distintas concentraciones del extracto de <i>C. brasiliense</i>	27

LISTA DE ANEXOS

- Anexo A Fructificación de *Calophyllum brasiliense* tomado de Trópico (base de datos del Missouri Botanical Garden).
- Anexo B Fructificación de *Calophyllum longifolium* tomado de Trópico (base de datos del Missouri Botanical Garden)
- Anexo C Registro mensual (altura de la planta y numero de hojas) en *Calophyllum brasiliense*
- Anexo D Resultados de Germinación de las Semillas de Lechuga (*Lactuca sativa*)

RESUMEN

El presente trabajo se enfocó en realizar comparaciones anatómicas foliares entre las especies del género *Calophyllum*, tomándose como especies de estudio a: fueron *C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaba*, las cuales son mencionadas y reconocidas en el Pacífico Colombiano como especies de importancia ecológica. Los análisis muestran que existen diferencias anatómicas entre las especies, observando la distribución de los laticíferos y la densidad estomatocítica hallados en su mayoría, en la epidermis inferior. Se obtuvieron muestras de raíces de la especie *C. brasiliense*, con el fin de analizar y verificar la presencia de hongos micorrizicos asociados al sistema radical de *C. brasiliense*. Los resultados obtenidos indican la simbiosis de hongos asociados al sistema radical para esta especie; las estructuras mayores observadas fueron hifas intrarradicales, y en pocas ocasiones algunas hifas extrarradicales en el microscopio a 40x. Los cálculos del porcentaje micorrizal indican que la especie *Calophyllum brasiliense* se encuentra en el rango del 64% de colonización para la planta, en suelos que predominan en el predio el Dindo ubicado en el corregimiento del Bajo Calima. Por último, se analizó el efecto alelopático a partir de la elaboración del extracto etanólico de hojarasca de Aceite María, especie (*Calophyllum brasiliense*), utilizando como parámetros de evaluación; porcentaje de germinación y longitud de la radícula sobre semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). Los resultados muestran que el extracto etanólico de las hojarasca de *C. brasiliense* influye más sobre la germinación de las semillas que en la elongación de la radícula, donde se observaron diferencias significativas para este estudio. Por esta razón se concluye que el compuesto tiene efecto alelopático sobre germinación de *Lactuca sativa* que actúa luego en la emergencia de la raíz.

ABSTRACT

This work focuses on leaf anatomical comparisons between species of the genus *Calophyllum*, of which as a study species were *C. brasiliense*, *C. longifolium* and *C. calaba* soaking mentioned and recognized in the Colombian Pacific and ecologically important species. Analysis shows that there are anatomical differences between species, noting the distribution of stomatal density laticiferous and found mostly in the lower epidermis. Samples were collected from roots of *C. brasiliense* species collected in an adult found in a plantation on the banks of the Bajo Calima Dindo property in order to analyze and verify the presence of mycorrhizal fungi associated with root systems of *C. brasiliense*. The results indicate the symbiosis of fungi associated with root system for this species, the larger structures were observed intraradicales hyphae, and rarely have any extraradicales hyphae under a microscope at 40x. Mycorrhizal percentage calculations indicate that the species *Calophyllum brasiliense* is in the range of 64% of settlers to plant in soils that predominate in the Dindo property located in the village of Bajo Calima. In addition, we analyzed the allelopathic effect from the production of ethanol extract of foliage of oil boiler, species (*Calophyllum brasiliense*), using as benchmarks, germination percentage and radicle length of lettuce seeds (*Lactuca sativa*). The results show that the ethanol extract of the foliage of *C. brasiliense* more impact on seed germination in the radicle elongation, where significant differences were observed in this study. For this reason it is concluded that the compound has allelopathic effect on germination of *Lactuca sativa* after serving in the emergence of the root.

1. INTRODUCCIÓN

La diversidad de valores y funciones que tradicionalmente se han asignado a los bosques y los árboles, han sido una prioridad en el transcurso de los años. La gran presión sobre los bosques y terrenos arbolados está motivando una pérdida generalizada de diversidad biológica generando y mencionando a la vez, una serie de inquietudes dentro de ellas, incluyen la deforestación generalizada, la extracción de árboles en sistemas agrícolas y hortícolas, la falta de plantación y protección a nivel mundial. Colombia, privilegiado por la diversidad y cantidad de recursos hídricos a nivel mundial, aproximadamente el 40% de su territorio esta cubierto de bosques, sin embargo la deforestación causada por la colonización de incendios forestales y la alta utilización de la madera, esta transformando estos privilegios en graves problemas ambientales, sociales y económicos¹

La lista roja de la Unión Mundial para la naturaleza (UICN) 2006, muestra una dura tendencia al aumento de la pérdida de la biodiversidad mundial; el número de especies amenazadas en el mundo ha sido de 13.119², 784 especies han sido declaradas como extintas mostrando a Colombia con un total de 3.402 especies de flora y fauna extintas en la lista roja para el año 2006. Sin embargo a pesar de los esfuerzos para la conservación de los ecosistemas forestales, persisten procesos de transformación, fragmentación y pérdida de actividades antrópicas, constituyéndose en una de las principales causas directas de pérdida de biodiversidad, disminución de bienes y servicios forestales. Los análisis estadísticos con relación a la deforestación determinaron un estimativo en el año 2004, para el periodo comprendido entre 1994 y 2002³, donde se totalizó una pérdida anual de bosques alrededor de 101.000ha en el territorio Colombiano; estimando una tala de árboles en Colombia de más de 11has de bosques cada hora. Es evidente, que en gran parte de la explotación forestal principalmente en el litoral pacífico, no se ha dado un proceso eficiente y racional en el aprovechamiento del recurso boscoso natural; pero, hay igualmente algunas evidencias y experiencias que muestran una trascendental importancia que el recurso boscoso tiene para el país en general y para el Pacífico en particular propagar estas especies forestales con fines de utilización agrícola, medicinal y nutricional, implementándolas en los diferentes sistemas agrícolas y agroforestales⁴.

¹ TOKURA *et al.*, KUN. En: Especies forestales del Valle del Cauca. Colombia 1996., p. 37.

² STEINER, G. Especies forestales en peligro de extinción. En: Ministerio de Ambiente, vivienda y desarrollo territorial. (MINAMBIENTE). 2006.

³ Ministerio de Ambiente, vivienda y desarrollo territorial (MINAMBIENTE) En: www.minambiente.gov.co. 2006

⁴ MUÑOZ, A. Especies focales para el Departamento del Quindío. Corporación Autónoma Regional del Quindío. Colombia. 2006., p. 9-27. 75-79.

Dentro de esta diversidad de especies forestales amenazadas para el Pacífico se mencionan las del género *Calophyllum*, principalmente la especie *C. brasiliense*; planta forestal que ha sido reconocida a nivel nacional e internacional por las cualidades y características propias de la especie. *Calophyllum brasiliense* conocida vulgarmente como Aceite María o Guanandi, es una de las plantas forestales en la Región Pacífica que aporta un valor económico, ecológico, nutritivo y medicinal; esta planta clasificada botánicamente dentro de las familias de *Clusiaceae* o *Guttiferae* ha sido utilizada mayormente en el corte y venta de su madera para la fabricación de mueblerías y embarcaciones, producto que surge a partir de la tala indiscriminada que se realiza en los diferentes sectores de la región, ocasionando en últimas la extinción de la especie⁵.

Esta planta ha demostrado un alto índice de propiedades y características medicinales ya que en la actualidad se usa contra varias enfermedades cutáneas⁶. La importancia que *Calophyllum brasiliense* manifiesta en los diferentes ámbitos o entornos agrícolas y/o medicinal, hace que esta planta haya generado curiosidad y avances investigativos por presentar un alto índice de propiedades químicas, motivo por el cual a pesar de haberse reducido su hábitat, aún logra encontrarse como pieza clave para un mayor uso y restablecimiento en campo⁷. Los resultados que *Calophyllum brasiliense* ha representado en la Región Pacífica, muestra potencial al ser utilizado como árbol protector, bajo cuya sombra pueda establecerse otros cultivos aprovechando el aporte de nutrientes por parte de las raíces o de materia orgánica producto que se origina a partir de la descomposición del material vegetal en el suelo⁸.

La incorporación de especies forestales en los suelos tropicales principalmente para el Pacífico, logran formar asociaciones simbióticas y mutuamente benéficas entre sus raíces y hongos especializados que ayudan y favorecen el crecimiento de las plantas en los diferentes sistemas productivos, aportando nutrientes al suelo⁹; esta formación raíz-hongo es llamada Micorriza. Ciertas investigaciones generadas por algunos autores entre ellos se mencionan Albert Bernard Frank, Ewlad Sieverding, Trappe, entre otros, demostraron que la colonización de la raíz por estos hongos ayudaban a las plantas a absorber nutrientes del suelo y que estos microorganismos no causan daño a las raíces, definiendo la naturaleza mutualista de dicha relación teniendo en cuenta las características funcionales y estructurales¹⁰. *Calophyllum brasiliense* despierta interés como planta forestal en presentar asociación micorrizica, ya que se desconoce información para esta

⁵ Clusiaceae. Familia de plantas de importancia comercial. En: www.fao.org.

⁶ PASA *et al.*, 2006. Reportorio Etnobotánico do Guanandi. (*Calophyllum brasiliense* Camb- Guttiferae) En: Congreso Nacional de Botánica. Brasil. 2000., p. 200.

⁷ MINAMBIENTE. Plantas forestales de importancia Ecológica. 2006. Capítulo 2, p 135.

⁸ TORRES *et al.*, 1992. Especies forestales nativas para plantio en áreas de brejo. *O Agrónomo.*, p. 13-16.

⁹ SIEVERDING. E. Vesícula Arbuscular Micorriza Management in Tropical Agrosystems, citado por BURBANO, Orejuela. H. El suelo: Una visión sobre sus componentes Biorgánicos. Colombia. 1989., p 296.

¹⁰ FRANK *et al.*, 1885. Citado por TRAPPE. J. What is Micorrhiza. En: Micorrizas in integrated systems from genes to plant development. 1996. ,p.3-6

especie. La importancia agronómica que esta planta genera para el Pacífico colombiano, la ubica como especie prioritaria de conservación ecológica por su potencial agrícola y agroforestal y demostrando en últimas asociación micorrizica en busca del incremento productivo y absorción de nutrimentos del suelo en relación a las actividades y desarrollo agrícola que se generen en las regiones tropicales tal como lo expresa Sieverding¹¹.

C. brasiliense no solo es reconocida por sus características físicas, ecológicas o por su importancia nutricional, sino también por poseer factores químicos y biológicos que la convierten como planta multifuncional de gran importancia en el área de las ciencias. Diversos estudios han sido realizados para el género *Calophyllum* que han conllevado a descubrir una diversidad de compuestos orgánicos por ejemplo con actividad antimalárica y antiplasmodial; compuestos encontrados como terpenos, alcaloides y xantonas¹², y otra serie de metabolitos secundarios con gran potencial que incluyen xantonas, esteroides, biflavonoides y piranocumarinas¹³.

Debe destacarse, que dentro del ámbito de la agricultura existen mecanismos de interferencia en la evolución de las comunidades de plantas, competencia por luz, agua, nutrientes, suelo o también la interferencia química o alelopatía, que ocurre cuando metabolitos producidos por una planta tienen efectos sobre otras plantas, como por ejemplo repelentes y atrayente químicos¹⁴. Ciertos compuestos liberados al medio actúan como inhibidores o estimuladores de la germinación de las semillas afectando o beneficiando de cierto modo el crecimiento de las plantas, logrando denominarse estas sustancias alelopáticas y su acción es más conocida como alelopática o efectos alelopáticos¹⁵. Los compuestos alelopáticos pueden ser liberados de las plantas al ambiente por medio de exudación de las raíces, lixiviación, volatilización y descomposición de residuos de plantas en el suelo¹⁶, lo cual puede evidenciarse a través de la evaluación del grado de inhibición del crecimiento de una planta sobre otra, entre especies diferentes¹⁷ y entre cultivares de una misma especie¹⁸.

Los síntomas relacionados con estos compuestos en el campo son reducción de la germinación, menor vigor de la plántula, radículas con escaso desarrollo, muerte

¹¹ SIEVERDING, E. 1991. Citado por SANCHEZ, M. ENDOMICORRIZAS. En: Agrosistemas Colombianos. Colombia. 1999., p.227.

¹² SCHWIKKARD *et al.*, Actividad Antimalarial Activity of plant metabolites. En: www.Scielo.org.2002

¹³ NOLDIN *et al.*, *Calophyllum* genus. Chemical and Pharmacological importance. En: www.Scielo.br. Vol.29. 2006.

¹⁴ MEJIA, J. Manual de Alelopatía Básica y Productos Botánicos. Colombia. 1995.,p. 83.

¹⁵ FOUNIER, L. El fenómeno de la Alelopatía y su posible aplicación en la agricultura. En: Resúmenes del seminario de Manejo Integrado de Malezas. Colombia.1985.

¹⁶ CHRISTENSEN, S. Weed supression in cereal varieties. En: www.fao.org. 1993.

¹⁷ KIMBER, Alelopatia.1973. Citado por SILVA, P. Efecto Alelopatico de los Rastrojos. Facultad de Ciencias Agronómicas. 2002.

¹⁸ GUENZI. *Et al.*, 1967. Citado por SILVA. Op. Cit., p.89.

de plántulas y amarillamiento de hojas. Diversos autores señalan que el efecto de estos compuestos es más pronunciado en el crecimiento de la radícula que sobre la germinación¹⁹ o el crecimiento de brotes, lo que se evidencia en una reducción en la relación raíz: brote²⁰.

En este trabajo se pretende registrar el crecimiento de unas plántulas de Aceite maría en condiciones de vivero hasta su traslado a campo, comparar la anatomía foliar de tres especies del genero *Calophyllum*, evaluar la existencia mycorrizal de las raíces de *Calophyllum brasiliense* y verificar y/o descartar la actividad aleloquímica de las hojarascas de esta especie usando como modelo de bioensayo semillas de lechuga a partir de la elaboración del extracto de sus hojas en condiciones de laboratorio, en búsqueda de nuevas alternativas propuestas en la región y para la región.

¹⁹ DIAZ, 1991; HEDGE Y MILLER, 1990. Citados por SILVA. Op. Cit ., p.89.

²⁰ KIMBER, 1973; LOVETT Y JESSOP, 1982, Citados por SILVA. Op. Cit ., p.89.

2. ANTECEDENTES

2.1 GENERALIDADES DE LA FAMILIA *CLUSIACEAE*

Las *Clusiaceae* o *Gutífera* son por lo general árboles o arbustos con savia lechosa y semillas en forma de capsula, aunque incluye también plantas trepadoras y otras que son epifitas; tienen canales o cavidades secretoras rellenas de aceites esenciales, grasas, antocianinas y resinas. Esta familia es reconocida por presentar 21 géneros y 137 especies²¹, mayormente árboles arbustos, y hemiepífitos. Dentro de la familia *Clusiaceae*, se destaca que existen especies de plantas que son utilizadas como fuente farmacéutica en la medicina natural²². Debido a sus diversos usos, se considera que esta familia es bien tolerada por el hombre²³. Otra serie de estudios científicos se han realizado encontrando en algunos casos compuestos químicos para esta familia con actividades antiplasmodial, antimaláricas, antivirales y con actividad antimicrobial, en la cual se mencionan flavonoides, esteroides, terpenos, heterociclos oxigenados, derivados de acilfloroglucinol y xantonas²⁴.

2.1.1 Genero *Calophyllum*. Según Mesa²⁵, el genero *Calophyllum* constituye un gran grupo de árboles tropicales que consta de 180 a 200 especies; muchas de ellas poseen propiedades medicinales y son empleadas para tratar ciertas enfermedades; entre las cuales se mencionan úlceras gástricas, procesos antiinflamatorios e infecciones patológicas²⁶, químicamente, *Calophyllum* es una fuente potencial de metabolitos secundarios con diversos constituyentes, entre los más comunes de este género se encuentran alcaloides, esteroides, terpenos, flavonoides, heterociclos oxigenados, derivados de acilfloroglucinol²⁷; biflavonoides, piranocumarinas y benzopiranos, entre otros²⁸.

Calophyllum se encuentra básicamente restringido a selvas húmedas, en tierras bajas, colinas y a veces en bosques de montaña, aunque algunas especies crecen en hábitats secos. De este género se han aislado otras moléculas, tales como las xantonas, las cuales han mostrado actividad citotóxica, actividad antiviral VIH y antibacteriana por lo que estas moléculas también son candidatos potenciales

²¹ BRAKO Y ZARUCCHI, 1993; ULLOA et al., 2004. Clusiaceae. En: www.Scielo.org.

²² FIGUEIREDO, N. Importancia de las Clusiaceae. Rezdadores, Pages & Pucangas. Brasil. 1979.

²³ PASA et al., 2000.

²⁴ SCHWIKKARD et al., 2002.

²⁵ MESA et al., Actividad Antiplasmodial de Extractos de plantas de *Calophyllum* (*Clusiaceae*). Colombia. 2007., p. 217-219.

²⁶ NOLDIN et al., 2006. En: www.Scielo.br

²⁷ SCHWIKKARD et al., 2002.

²⁸ NOLDIN et al., 2006. Op. Cit., p.549

para su evaluación como fármacos antineoplásicos y antibacterianos, además de constituir moldes para el diseño de nuevos fármacos, atribuyéndose dicha actividad citotóxica a que actúan como bloqueadores del ciclo celular en la fase G2/M²⁹.

2.1.1.1 Taxonomía de *Calophyllum*. En Colombia se han reportado tres especies: *C. calaba* L,³⁰ *C. longifolium* Willd y *C. brasiliense* Cambess.

Para el Pacífico colombiano se han reportado dos especies de *Calophyllum*, conocidas como Aceite maría y Marío. La primera de ellas es *Calophyllum brasiliense* Cambess. y la segunda *Calophyllum longifolium* Willd. Una tercera especie *Calophyllum mariae* Planch y Triana fue sinonimizada con *Calophyllum brasiliense* subsp. *mariae* (Planch y Triana) Vesque³¹. Ambas especies son simpátricas, aunque *C. brasiliense*, a pesar de ser más prolífica es menos abundante regionalmente.

Calophyllum longifolium es menos fructificante pero aparece más abundante en los bosques (figura 2), por lo que se podría interpretar como más apta para las condiciones húmedas del Pacífico debido a razones que no han sido analizadas.

C. brasiliense aparece mejor representada en bosques secos de Bolivia, Brasil, Costa Rica, Cuba, Guyana, Jamaica, México, Nicaragua, Perú, Puerto Rico como lo indica el mapa de distribución de Trópicos (figura 1), pero para el Pacífico es la menos abundante.

Hasta la fecha la distinción de las especies es difícil, no sólo por su Taxonomía si no por la amplia variabilidad morfológica de las mismas. En esos casos las comparaciones morfoanatómicas microscópicas pueden ayudar a facilitar la toma de decisión.

²⁹ IBANEZ, L. Efecto antitumoral, antiVIH y Elucidación estructural de las hojas y corteza de *Calophyllum brasiliense*. 2007.

³⁰ <http://sweetgum.nybg.org>.

³¹ [http://www.biovirtual.unal.edu.co/colecciones/herbario?param=1&especie=Calophyllum mariae](http://www.biovirtual.unal.edu.co/colecciones/herbario?param=1&especie=Calophyllum%20mariae) Planch. & Triana.

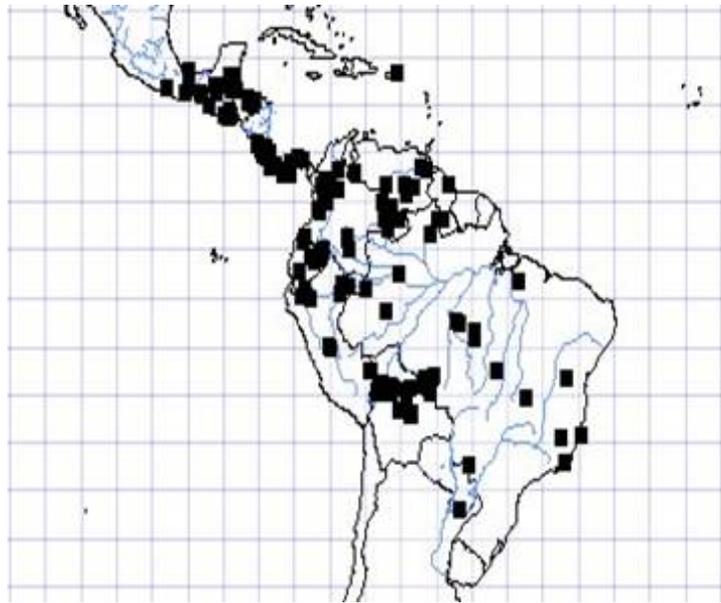


Figura 1. Mapa de distribución de *C. brasiliense*. Tomado de Trópico (Base de datos del Missouri Botanical Garden)

Calophyllum brasiliense tiene una amplia variabilidad morfológica y rango de distribución extenso. Se han reconocido las siguientes variedades y subespecies³²:

Calophyllum brasiliense var. *antillanum* (Britton) Standl. Trop. Woods 30: 7 1932., *Calophyllum brasiliense* var. *burchellii* Vesque Monogr. Phan. 8: 592 1893., *Calophyllum brasiliense* var. *elongatum* Engl., *Calophyllum brasiliense* var. *gardneri* Vesque Monogr. Phan. 8: 592 1893., *Calophyllum brasiliense* subsp. *longifolium* (Willd.) Vesque Monogr. Phan. 8: 592 1893 reconocido y aceptado como *Calophyllum longifolium* Willd., *Calophyllum brasiliense* subsp. *mariae* (Planch y Triana) Vesque Monogr. Phan. 8: 593 1893., *Calophyllum brasiliense* var. *rekoii* (Standl.) Standl. Trop. Woods 30: 7 1932. *Calophyllum brasiliense* var. *spruceana* Vesque Monogr. Phan. 8: 592 1893.

Mientras tanto *C. longifolius* presenta una distribución más restringida, que se interpreta como habitante típica de bosques húmedos o sin una marcada estación seca

³² <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Calophyllum+brasiliense>

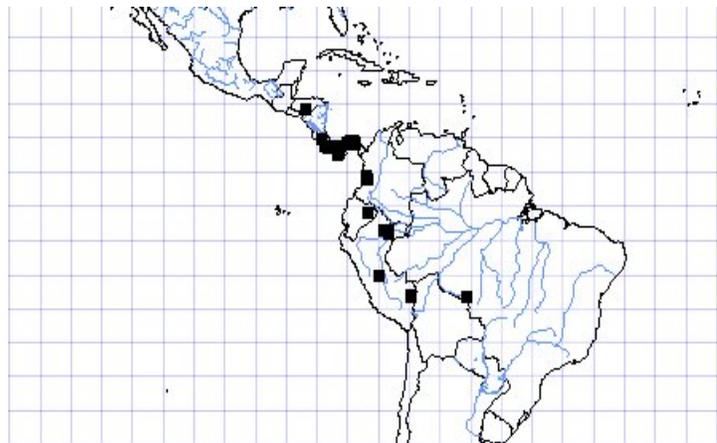


Figura 2. Distribución de *C. longifolius* del Herbario Nacional de la Universidad Nacional de Colombia (COL)

Calophyllum calaba L. crece particularmente en el litoral Caribe, debido posiblemente a que hay cierta dispersión de las semillas por mar. Esta especie es fácilmente distinguible de las dos anteriores, debido a sus hojas más obovadas (figura 3), ápices redondos y frutos más grandes, y a la gruesa corteza del tallo. Pese a su porte, esta especie que puede crecer en playas arenosas y salinas, presenta una madera de baja calidad.



Figura 3 . Plantas de *Calophyllum calaba* del vivero de la Universidad del Pacífico, Municipio de Buenaventura.

2.1.2 *Calophyllum brasiliense* (Aceite maría). *C brasiliense* conocida como Aceite maría, pertenece a la familia *Clusiaceae* y logra encontrarse desde México y Panamá, Ecuador y Bolivia; en Colombia anteriormente esta especie se hallaba en la Costa Pacífica en los sectores de Tumaco, Risaralda, en la serranía de San

Lucas, en Carare-opón, en los Llanos Orientales, en el sector del medio Caquetá, en el Norte de Guaviare, en cercanías a Mitú (Vaupés) y en la amazonia colombiana³³, ya que la tala indiscriminada de esta especie debido a la calidad de su madera a logrado reducir las poblaciones de *Calophyllum* en sus diferentes sectores del país.

C. brasiliense se le reconoce especialmente por su corteza que presenta fisuras en forma de diamante y es de color pardo morena con algunas partes de color amarillo o amarillento, las fisuras suelen ser más oscuras y uniformes en el fuste de los árboles adultos, en los árboles jóvenes, estas se presentan aisladas y pequeñas sobre la corteza que es mas o menos lisa, lo mismo en las ramas de los árboles adultos. La corteza al corte, produce un látex de color amarillo y poco abundante.

La base del fuste tiene en algunos casos contrafuertes pequeños. Sus hojas son simples y opuestas penninervadas, el látex es blanco y las hojas son alternas. Regularmente, *Calophyllum* presenta sus hojas brillantes lo que hace distinguirlo a cierta distancia³⁴; además, esta especie también logra caracterizarse por presentar diferentes propiedades químicas, biológicas y medicinales que la hacen de mucho valor en sus diferentes formas de utilización bien sea en el ámbito de la agricultura o en la medicina tal como lo afirma Ibáñez³⁵.

2.1.2.1 Distintivos de la especie. *Calophyllum brasiliense* es un árbol de gran porte; alcanza comúnmente entre 20 y 30 metros de altura, aunque puede crecer hasta 45 metros, presenta un diámetro de 40 a 60 centímetros, llegando incluso hasta los dos metros y exhibe fuste recto, cilíndrico, libre de ramas en los 2/3 basales, algunas veces con pequeños contrafuertes en la base³⁶. Esta especie crece desde el nivel del mar hasta los 1.700 msnm, en bosque húmedo tropical, especialmente en zonas de colinas y áreas de terrazas, prefiere suelos aluviales, profundos arcillosos, muy húmedos y ácidos (pH 4.5-6.0). Su fácil adaptabilidad le permite reproducirse en suelos ricos en hierro y aluminio pero pobres en potasio y fósforo, tolera inundaciones en planicies cercanas a cursos de agua y resiste bien la sombra, de manera que el árbol se puede encontrar fácil y abundantemente en la parte baja del dosel del bosque³⁷.

Según el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE)³⁸, los individuos de la especie se distinguen también, externamente, por exhibir una

³³ ROJAS, GUTIERREZ. A. Aceite maría: Especie Multifuncional. En: www.revistas-MM.com.

³⁴ AGUILAR, J. Relación de unos aspectos útil de flora en Guatemala. En: www.Scielo.org. 1986., p. 383.

³⁵ IBANEZ, VASQUEZ. L., 2007.

³⁶ <http://www.fao.org>. *Calophyllum brasiliense*

³⁷ <http://www.Scielo.org>.

³⁸ Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). *Calophyllum brasiliense*. Proyecto semillas forestales. 2000., p.58.

copa globosa y densa, que ocupa solo el tercio superior del árbol, la cual presenta hojas simples opuestas, de nervaduras paralelas entre si. La floración de la especie es poco frecuente y sólo se produce cada año en los meses de Noviembre y Julio en el Pacífico colombiano y, en su momento, exhibe flores pequeñas, masculinas o femeninas, de color crema amarillo en racimos que generalmente son más cortos que las hojas. Los frutos, son drupas globosas de 2.5 a 3.0 centímetros de diámetro, de color verde pálido, amarillento o marrón en la madurez, su pulpa es de olor fragante y envuelve una semilla esférica de gran tamaño; en Colombia los frutos aparecen en los primeros meses del año.

2.1.2.2 Bondades de la especie. La versatilidad del uso de la madera de *Calophyllum brasiliense* esta directamente ligada a las propiedades físicas y mecánicas con la que ésta cuenta. Universalmente, es admirada por su hermosura debido a su color rosado rojizo intenso; su bella corteza, la cual se oscurece rápidamente al contacto con el aire, es profundamente fisurada y de consistencia dura. En cuanto a sus propiedades físicas, tiene como principal cualidad, un alto porcentaje de estabilidad dimensional con una relación de contracción baja; es decir, que no presenta problemas considerables de distorsiones ni alabeos durante el secado, coeficiente que le permite clasificarse entre las maderas más estables³⁹.

La madera de esta especie se caracteriza por ser muy durable a moderadamente durable en contacto con el suelo y el agua, siendo resistente al ataque de biológico (termitas) y altamente resistente a hongos; es buena para fabricar pulpa para papel y obtener fácilmente, chapas de desenrollado de primera calidad y atractiva apariencia⁴⁰. La industria maderera ha aprovechado después de la caoba y el cedro, el *Calophyllum brasiliense* para fabricar mueblería en general, embarcaciones (canoas) y construcciones de lujo, pisos de parquet, puentes, cabos de herramientas, entre otras.

2.2 USO E IMPORTANCIA ECOLÓGICA, FARMACOLÓGICA Y/O MEDICINAL

Calophyllum brasiliense es una especie dioica con flores masculinas y femeninas en diferentes individuos, es recomendada para sistemas agroforestales ya que su lento crecimiento inicial permite aprovechar el terreno para otros cultivos durante dos o tres cosechas según el cultivo o combinándola con árboles frutales⁴¹, tiene buen uso ornamental por la belleza del forraje. Además, tiene gran potencial para ser usada como cortinas rompevientos y es resistente a muchos herbicidas usados en la agricultura. Se ha usado para estabilizar suelos y reducir la compactación de estos en pastos degradados, recomendada para sistemas

³⁹ ROJAS, GUTIERREZ. A, 2007.

⁴⁰ <http://www.conabio.gob>.

⁴¹ <http://www.fundecor.org.com>. *Calophyllum brasiliense.com*

silvopastoriles; sin embargo, bajo este sistema y debido a su lento crecimiento inicial, requiere un control de malezas intensivo durante los tres primeros años⁴².

Según Noldin y Buffón citados por Mesa⁴³ en la familia *Clusiaceae*, *Calophyllum* constituye un gran grupo de árboles tropicales que poseen propiedades medicinales y son empleadas para tratar enfermedades como úlceras gástricas, infecciones patológicas, procesos inflamatorios, entre otros.

De este género se han aislado otras moléculas, las cuales han mostrado actividad citotóxica, actividad antiviral VIH y antibacteriana por lo que éstas, también son candidatos potenciales para su evaluación como fármacos antineoplásicos y antibacterianos. Además de los avances o estudios farmacéuticos relacionados con este género, hechos por diferentes universidades entre ellas se destacan la Universidad Tecnológica de Pereira, la Javeriana de Bogotá, entre otras, se resalta la necesidad e importancia en cultivar y proteger esta especie ya que logra poseer además de la calidad de su madera, compuestos químicos obtenidos del follaje que logran ubicarla y ser mencionada como especie multifuncional.

Desde que a finales del siglo pasado fueron descubiertos varios compuestos con potencialidades antivirales en la familia *Gutífera* muchos son los grupos que se han dedicado a su estudio. Dentro de esta familia, las especies de *Calophyllum* tienen un importante papel por poseer entre sus metabolitos algunas cumarinas y xantonas con actividad sobre el virus de inmunodeficiencia adquirida.

En general dentro de estas especies se han aislado además de xantonas y cumarinas, compuestos tales como: biflavonoides, flavonoides, cromonas, triterpenos y esteroides. Aunque la actividad antiviral es la que más frecuentemente es referida sobre compuestos aislados de especies de *Calophyllum*, existen reportes importantes sobre actividad antimicrobiana y anticancerígena, incluyendo una cierta capacidad quimiopreventiva; también están descritas aunque en menor medida, actividad analgésica y efecto antioxidante (Bello *et al*, 2007)⁴⁴. *Calophyllum* ha logrado ser mencionada en talleres regionales sobre recursos genéticos forestales que la ubican como especie con mayor prioridad y necesidad operativa en sistemas de ayuda para la utilización sostenible y la ordenación de los recursos de bosques y árboles, en problemas relacionados con el intercambio y acceso de germoplasma, el desarrollo y fortalecimientos de bancos de semillas de árboles forestales y/o agro-forestales y el intercambio de información genética entre países en relación con las especies prioritarias.

⁴² CATIE, 2000.

⁴³ MESA *et al.*, 2007.

Aguilar Girón⁴⁴ afirma que la resina amarilla que exuda la corteza tiene uso medicinal aplicable a cierto tipo de heridas, infusiones pectorales, febrífugo, etc., el aceite de sus semillas sirve para el tratamiento de afecciones de la piel y las hojas pueden ser usadas en parches medicinales anti-inflamatorios y en infusiones para el asma y problemas estomacales. Igualmente existen otros reportes que resaltan que el látex que mana del tronco conocido como bálsamo de María es usada para controlar la comezón de la piel, cicatrizar úlceras y reducir inflamaciones⁴⁵.

2.3 SUPERVIVENCIA DE *Calophyllum brasiliense*

Para Muñoz⁴⁶, *Calophyllum* fue muy abundante en algunas regiones del Pacífico colombiano, especialmente en el Departamento del Quindío, pero el uso de la madera para diferentes fines y la tala indiscriminada de árboles, han disminuido notablemente las poblaciones de Barcinos. Salento, ó (Barcínales como fue declarado en 1851).

Hoy, la especie comienza a escasear en su ámbito natural producto de la sobre-explotación, del uso desmedido provocado por lo atractivo de su apariencia y que se ha mantenido históricamente desde que se reconocieron sus cualidades físicas y mecánicas; no en vano, por ejemplo la United Fruit Company registro un consumo elevado en las zonas bananeras de Centroamérica, empleándola para construir durmientes de ferrocarril, paredes, pisos y muebles en el interior de las viviendas, a la vez también se registraron pequeñas exportaciones de la especie a Estados Unidos y Europa, donde tuvo gran aceptación, lo que estimuló en cierto tiempo su demanda⁴⁷

En la actualidad, la madera de esta especie sigue siendo usada ampliamente demandada en toda su zona de distribución para diversos propósitos, sin embargo, el numero de plantaciones forestales son pocas conscientes del problema, en países como Costa Rica y Brasil se han establecido pequeños semilleros en los cuales se estudia la especie; en Sarapiquí, Costa Rica, por ejemplo, la organización para estudios tropicales (OET) sentó parcelas experimentales mixtas y puras, mostrando mayor crecimiento los individuos en condición pura. Específicamente en Colombia, se han realizado algunos estudios silviculturales adelantados por organismos de investigación, aunque las empresas privadas no los han considerado para iniciar una correcta comercialización y uso de la especie⁴⁸.

⁴⁴ AGUILAR, GIRON. J, 1986.

⁴⁵ <http://www.conabio.gob.com>.

⁴⁶ MUÑOZ. A, 2006

⁴⁷ ROJAS. GUTIERREZ. A., M. 2007

⁴⁸ <http://www.conabio.gob.com>

Entre los estudios realizados en Colombia se encuentran las parcelas de investigación que fueron instaladas por la Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal, Conif y el Instituto Nacional de Recursos Naturales – Inderena, en las colinas del Bajo Calima, cerca de Buenaventura en la década de 1980, las parcelas instaladas en el municipio de Puerto Boyacá por Luís Jairo Silva en terrenos de la reforestadora Bosques del Futuro en 1998 y, los resultados preliminares del Arboretum del Centro Forestal Tropical Bajo Calima al décimo año de su establecimiento, en 1994. Los estudios coincidieron en afirmar que, aunque en los primeros años la especie crece lentamente, con un promedio de 1.0 a 1.5 metros de altura por año (entre 1.0 a 1.5 metros cúbicos anuales), ésta se destaca porque después de las primeras etapas de vida se desarrolla bien alcanzando rendimientos significativos llegando a ser maderable a los 15 años, en promedio.

De la misma forma, los estudios ratificaron que la especie es potencialmente utilizable como componente arbóreo en trabajos silviculturales en la región del litoral Pacífico colombiano, que funciona muy bien para arreglos agroforestales y enriquecimiento de ecosistemas pobres y que ofrece un alto porcentaje de germinación pues, del 100 por ciento de las semillas, el 90 por ciento se desarrollan sembradas sin endocarpio, con endocarpio quebrado un 95 por ciento y con el fruto entero el 75 por ciento⁴⁹.

2.4 COMERCIALIZACIÓN

Para Rojas⁵⁰, las características de versatilidad de la especie, así como todas las propiedades físicas y mecánicas de la madera ponen a *Calophyllum brasiliense* en un lugar privilegiado en cuanto a su comercialización, además de ser una especie de fácil germinación que puede sustituir otra de gran belleza y altos costos en el mercado.

En Colombia, además que la especie no cuenta, a nivel global ni local, con una normatividad que la proteja fuera de la existente para aprovechamiento de bosque natural; no se tienen registros del total de poblaciones existentes de la especie, lo que dificulta su control, aunque la Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia (CORANTIOQUIA) publicó en el sistema de información de la cadena forestal (2005), que en una área total de 874,079.630 has el volumen movilizado de la especie fue de 3,774.000 m³. Paradójicamente, hoy la escasez y la tala indiscriminada sumada al nulo manejo del bosque natural y plantación de la especie hace que su comercialización no sea tan alta, así lo ratificó M&M al llamar a seis aserraderos en Bogotá, de los que solo uno ofrece la madera por encargo a un precio de 17 mil pesos la pieza en camión, no obstante otros aseguran que la pieza de Aceite maría se puede conseguir a un precio que oscila entre 20 y 35 mil pesos⁵¹.

⁴⁹ <http://www.conabio.gob.com>

⁵⁰ ROJAS GUTIERREZ. A., M, 2007.

⁵¹ <http://www.salvemoslos.com>. Especies arbóreas en peligro de extinción.

3. METODOLOGIA

El desarrollo del presente estudio se realizó en dos fases:

3.1 FASE DE CAMPO:

3.1.1 Prospección de área para la recolección del material vegetal. La prospección se realizó desde Junio a Diciembre de 2008.

La primera fase investigativa se desarrolló en la Facultad de Ingeniería Forestal de la Universidad del Tolima (UNITOLIMA), ubicada en el corregimiento de Bajo Calima localizada en la vertiente del Pacífico de la Cordillera Occidental, en jurisdicción del municipio de Buenaventura, en el Departamento del Valle del Cauca, donde se obtuvo información referente al seguimiento morfológico de unas plántulas de Aceite maría (*Calophyllum brasiliense*) establecidas y/o cultivadas en condiciones de vivero obtenidas a partir de la regeneración natural en campo, donde se tuvo en cuenta ciertas variables observadas como altura de planta, número de hojas, etc.

El análisis estadístico realizado para llevar a cabo el registro de las plántulas establecidas en vivero, fue un análisis tipo descriptivo considerando además de la altura de la planta y número de hojas, algunas variables morfológicas de interés como textura de la hoja, bordes o márgenes de la hoja, ápice y bases de la hoja, nerviación, forma y arreglo de la hoja. La toma de los datos finalizó una vez las plántulas o plantas alcanzaron una altura aproximadamente de 30 cm de altura.

3.1.2 Recolección del material vegetal (Raíces). El material vegetal se recolectó en un predio ("El Dindo") en el corregimiento del Bajo Calima. La recolección se realizó durante la última quincena del mes de Febrero y la primera de Mayo de 2009.

Esta fase se llevó a cabo en el predio el Dindo en el corregimiento del bajo calima localizada fuera de la ancha faja de selva hidrófila que ocupa el litoral Pacífico (Vázquez, 1990); El sector constituido por suelos que se clasifican como Entisotes, originados por procesos aluviales y la alta meteorización, caracterizados por presentar perfiles no desarrollados, de textura arcillosa a franca y colores gris y amarillo, con bajo contenido de materia orgánica (Cuatrecasa, citado por Rojas, 1997); la zona del Bajo Calima se define íntegramente en la Hygrophytia, clasificación ecológica explicada sencillamente por las siguientes características climatológicas: una precipitación anual de 8000 mm, humedad relativa promedio del 87%, temperatura 22°C y que poco exceden de 30°C, suelo fértil poco profundo con acidez bastante elevada, cuyo pH oscila entre 4,5 y 5,6; alta concentración de aluminio, bajo contenido de bases intercambiables, baja capacidad de intercambio catiónico (C I C) y baja concentración de Boro y Fósforo

según Cano, (1984); Huertas (1992); Vásquez *et al.*, (1994) citados por (Melo *et al.*, 1997). La altura sobre el nivel del mar del paisaje varía entre 70 y 150 m según Huertas, (1992) Cardozo y Martínez, (1994) citados por (Melo *et al.*, 1997).

3.1.3 Colecta de las hojas de las tres especies del Genero *Calophyllum* (*C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaba*). Esta fase se llevó a cabo en el Campus Universitario de las instalaciones de la Universidad del Pacífico en el municipio de Buenaventura, donde se tomaron muestras foliares de las tres especies del genero *Calophyllum* ubicadas en vivero; para la posterior comparación de la anatomía foliar de cada una de estas plantas, se utilizo el método de impresión de células.

3.2 FASE DE LABORATORIO:

3.2.1 Método de impresión de células. Para comparar la anatomía foliar de las especies del género *Calophyllum* (*C. brasiliense*, *C. longifolium*, *C. calaba*), se utilizó el método de impresión de células, el cual consistió de la siguiente forma:

- Se aplicó acetato de celulosa en acetona en una pequeña parte del haz y del envés de cada una de las hojas.
- Se colocó cinta en las partes marcadas y se levanto la impresión
- Se hicieron cortes perpendiculares transversales a la hoja.
- Se hicieron las observaciones en el microscopio

3.3 Tinción de raíces. Para la identificación o reconocimiento de la presencia o existencia de hongos asociados al sistema radical de la especie *Calophyllum brasiliense*, se utilizó la técnica propuesta por Sieverding (1991), realizando una serie de modificaciones correspondientes para las raíces de Aceite maría (*Calophyllum brasiliense*), para una tinción uniforme, obteniendo las siguientes modificaciones:

- Se separaron las raíces del suelo y se utilizaron las más jóvenes.
- Se tomo una muestra aproximada de 5 g de raíces.
- Las raíces se lavaron y se colocaron en tubos de ensayo.
- Se les adicionó KOH al 10% y se llevaron a Baño María a 90 °C por 3 minutos.
- Las raíces aclaradas, se sacaron y lavaron con abundante agua.
- Se les adicionó HCl al 10%, y las raíces se llevaron a Baño María a 90°C por 1 minuto.

- Se eliminó el HCl y se lavaron con abundante cantidad de agua, para su neutralización
- Se les adicionó el colorante Tripano azul al 0.1% y se llevaron a Baño María a 90 °C por 2 minutos.
- Se recuperó el Tripano azul, y se lavó bien las raíces con agua corriente.
- Para la evaluación las raíces se colocaron en cajas petri, se cortaron en sentido longitudinal (para disminuir el grosor de las mismas) en trozos de 1 cm aproximadamente que se extendieron en portaobjetos 10 trozos en total y colocándoles cubreobjetos.

3.3.1 Porcentaje de colonización. Para la determinación del porcentaje de colonización, los diez trozos de raíces teñidas de 1 cm, se llevaron al microscopio y se realizaron las observaciones de los puntos colonizados y no colonizados con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ colonización} = \frac{\text{PUNTOS COLONIZADOS}}{\text{Total puntos observados (C y NC)}} \times 100$$

C: colonizados; NC: no colonizados (Sieverding, 1991).

3.4 Elaboración del Extracto. Para la obtención del extracto vegetal de las hojarasca de Aceite maría (*Calophyllum brasiliense*), se siguió el siguiente protocolo:

3.4.1 Secado y selección del material vegetal. La hojarasca fue expuesta a temperatura ambiente para su secado. Posteriormente se hizo una selección del material vegetal (hojas u hojarasca que no presentaran o manifestaran ningún síndrome o signo de enfermedad patológica).

3.4.2 Trituración del material. El material vegetal fue triturado en una licuadora eléctrica, obteniéndose 80g.

3.4.3 Macerado y almacenaje del extracto. El material vegetal se impregno con 350ml de etanol al 96% y se almaceno en oscuridad durante un periodo de diez, con el fin de facilitar la liberación de los componentes activos., agitandose periódicamente hasta tornarse en un color oscuro hasta su utilización.

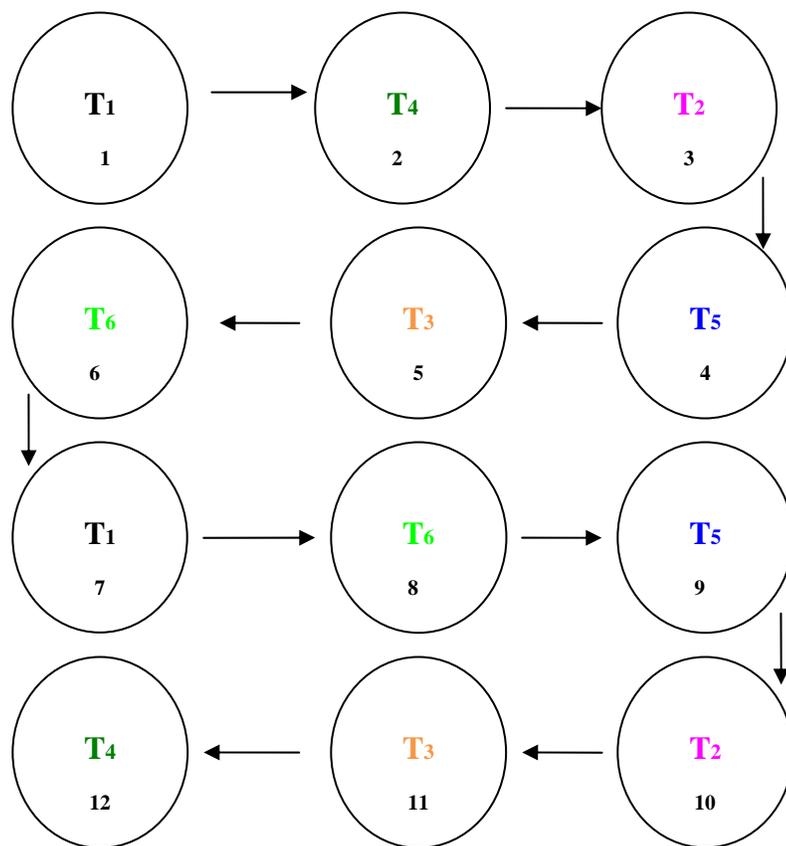
3.4.4 Estandarización del extracto etanólico. El extracto etanólico se llevo a sequedad; una vez evaporada la solución, a los residuos restantes se le adicionó pequeñas cantidades de agua destilada esterilizada (x-ml), obteniendo como resultado final la solución madre.

3.4.5 Establecimiento del bioensayo.

El ensayo se realizó en el laboratorio de Química en las instalaciones de la Universidad del Pacifico (UNIPACIFICO) ubicada en la Ciudadela Colpuertos, con el fin de evaluar o determinar la eficacia del extracto vegetal de las hojarasca de Aceite maría (*Calophyllum brasiliense*) como posible agente alelopático, utilizando como modelo de ensayo semillas de lechuga (*Lactuca sativa*).

4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con un solo factor, seis niveles y dos replicas para un total de 12 unidades experimentales en el cual los tratamientos fueron distribuidos de la siguiente forma (Testigo, 10%, 20%, 30%, 40% y 50%), el número de semillas por cada tratamiento fue de 20 semillas para un total de 240 semillas. Los parámetros evaluados para el ensayo fueron: porcentaje de germinación y longitud o elongación de la raíz.



5. RESULTADOS

5.1 REGISTRO DEL CRECIMIENTO DE *Calophyllum brasiliense*

Los datos obtenidos referentes a las plántulas de Aceite maría (*Calophyllum brasiliense*), fueron los siguientes:

Para el registro del crecimiento de estas plántulas, se realizó un análisis descriptivo considerando variables de interés como altura de la planta y número de hojas (Tabla 1), para ello se escogieron cinco (5) plantas al azar para su posterior estudio, obteniendo sus alturas en promedio en meses (Grafica 1).

Tabla 1. Registro promedio mensual de las plantas de aceite maria

Muestra 5 plantas	MESES					
	Julio	Agosto	Sep	Oct	Nov	Dic
Altura (cms)	19,2	24,2	27,4	29,5	31,3	32,8
Número de hojas	5,4	7	8	8,8	9,8	10,8

Durante la etapa de crecimiento para las plántulas de Aceite maría (*Calophyllum brasiliense*), la planta de mayor altura para el mes de Diciembre, fue la número 2 con 40cm, ya que al comienzo del mes de Julio el dato inicial en vivero, fue de 19cm de altura (Figura 1). El Registro promedio mensual en cuanto a la altura de estas plantas para el mes de Julio hasta Diciembre lo refleja la tabla 1.

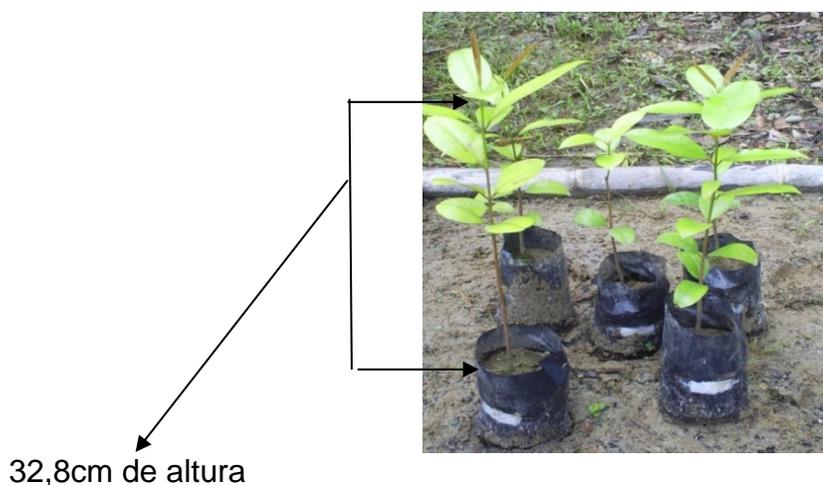
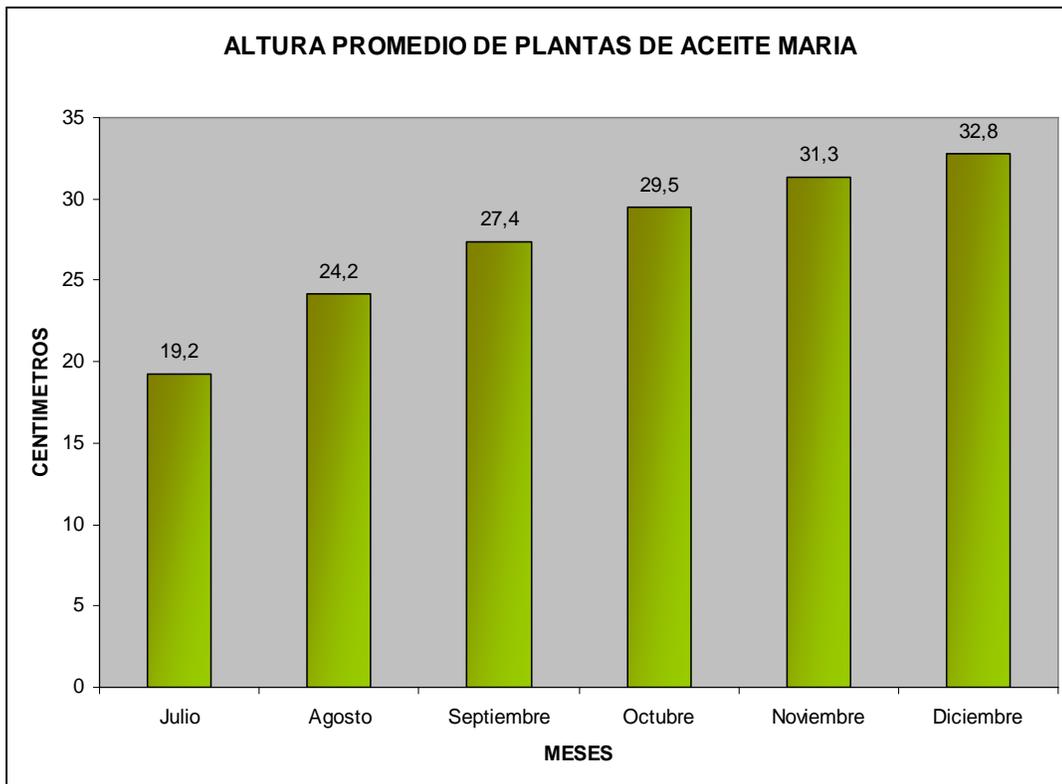
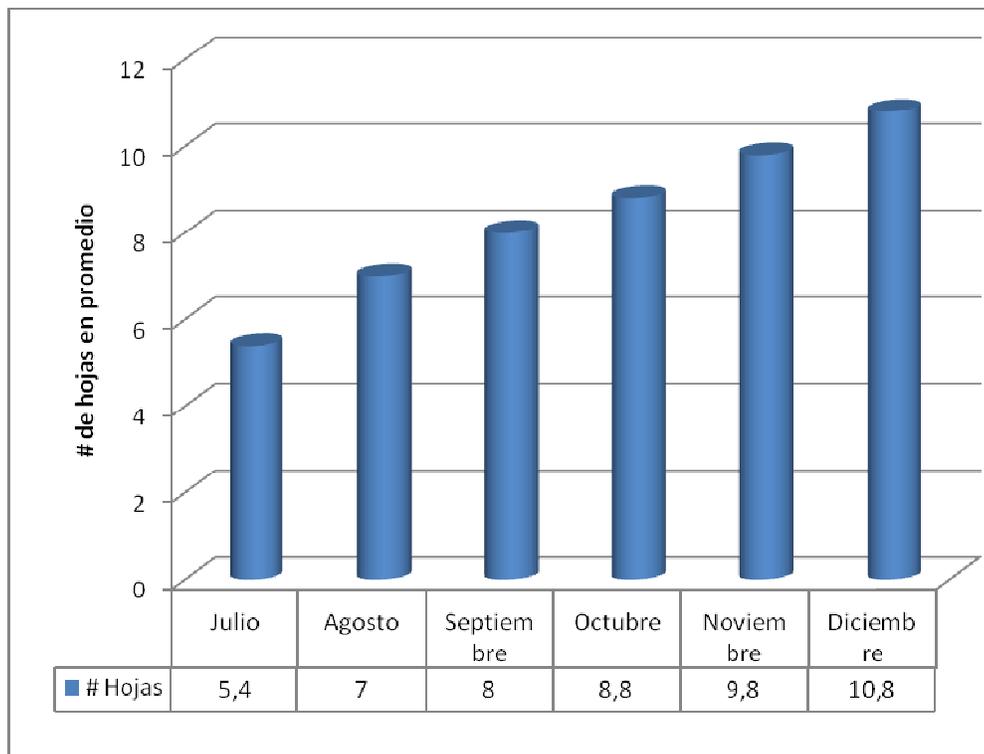


Figura 4. Altura de la Planta #2 en el mes de Diciembre



Gráfica 1. Registro promedio de la altura de las plántulas de Aceite maría

En cuanto al número de hojas por planta, la que mayor produjo fue la planta número 4 con 13 hojas en su totalidad para el mes de Diciembre. El número de hojas promedio para las plantas en el mes de Julio hasta Diciembre fue: En el mes de Julio fue de 5,4; en Agosto 7,0; para Septiembre fue de 8,0; para el mes de Octubre fue 8,8; en Noviembre 9,8 y para el mes de Diciembre 10,8 (Grafica 3)



Grafica 2. Número de hojas en promedio Para las plántulas de Aceite maría

Otras variables de interés también fueron registradas durante la etapa de crecimiento para la especie *Calophyllum brasiliense* (Tabla 2).

Tabla 2. Variables morfológicas (textura, margen o bordes, forma, ápice, base y nerviación o venación de las hojas)

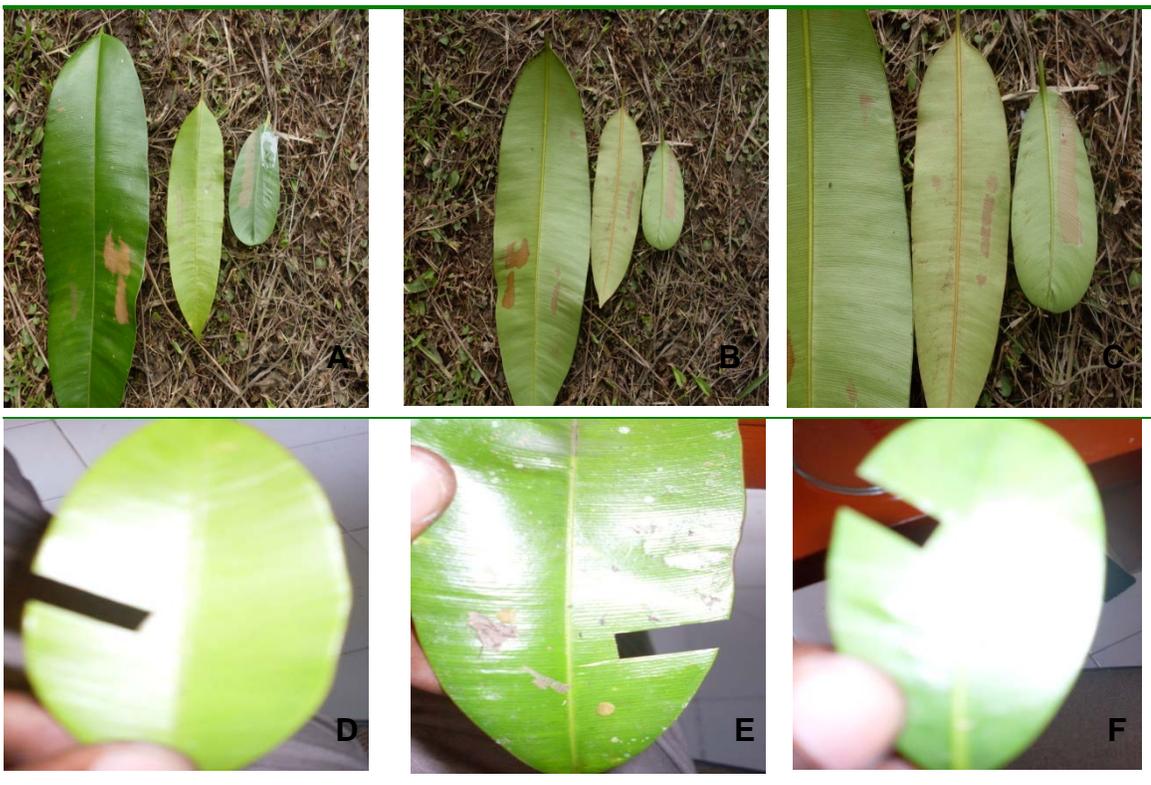
Textura de la Hoja	Coriácea
Margen o bordes de la Hoja	Lamina entera – no lobulada
Forma de la Hoja	Elíptica
Ápice	Acuminado (con punta)
Base	Obtusa
Venación o Nerviación	Pinnada

5.2 ANATOMÍA FOLIAR DE *C. brasiliense*, *C. longifolium* Y *C. calaba*

Las observaciones para cada una de las especies fueron las siguientes:

El método de impresión de células permitió comparar las especies del género *Calophyllum* a partir de los cortes histológicos de sus hojas (figura 2). Las estructuras observadas fueron vasos laticíferos y presencia de estomas entre las especies, mostrando diferencias anatómicas entre ellas (figura 3).

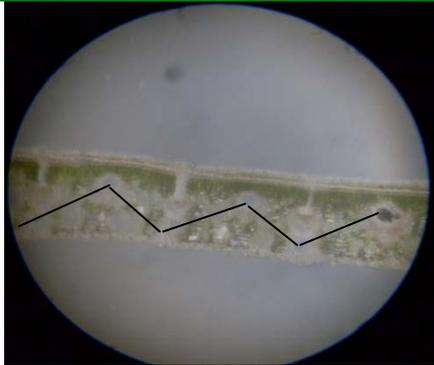
Figura 5. Comparaciones entre las hojas y cortes histológicos en la parte superior de las especies del género *Calophyllum*.



A (Parte superior de las hojas de las especies de *Calophyllum* (*C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaca*), **B** (Parte inferior de *C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaca*), **C** (Margenes o fibras en la parte inferior de las tres especies de *Calophyllum*), **D** (Corte transversal superior de la especie *C. brasiliense*), **E** (Corte transversal superior de la especie *C. longifolium*), **F**(Corte transversal superior de la especie *C. calaba*).

Figura 6. Distribucion entre los laticiferos y diferencia entre los entomas entre las especies de *Calophyllum* (*C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaba*)

Laticíferos intercalados en *C. brasiliense*



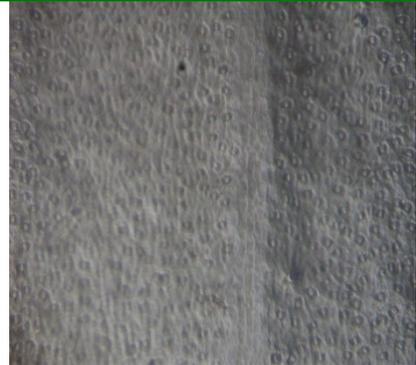
Laticíferos rodeados de pequeñas Celulas o lumenes en *C. longifolium*



Laticíferos entre los espacios Intervenales en *C. calaba*



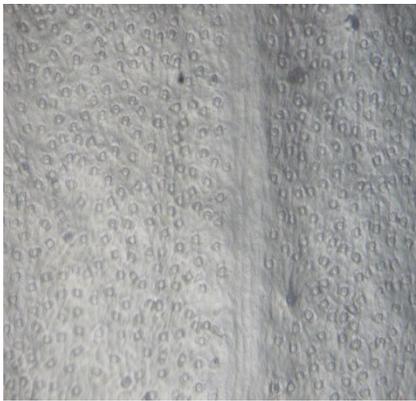
Densidad estomática en *C. brasiliense*



Densidad estomática en *C. longifolium*



Densidad estomática en *C. calaba*



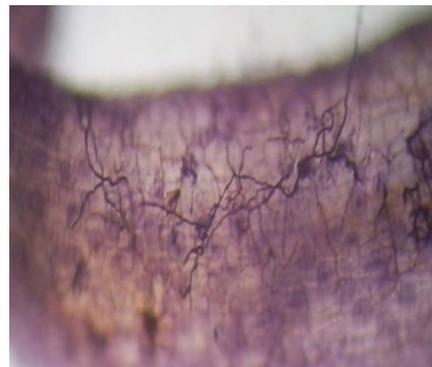
5.3 TINCIÓN DE MICELIO MICORRÍZICO

La técnica de tinción de raíces expuesta por Sierverding (1991), permitió identificar algunas estructuras que confirman la simbiosis entre los hongos micorrizicos y el sistema radical de *Calophyllum brasiliense*. Las estructuras se manifestaron como micelios extra e intrarradicales. (Figura 2 y 3).

Figura 7. Hifas extra e intrarradicales a 10x



Figura 8. Hifas intrarradicales a 40x



El porcentaje de colonización en raíces de la especie *Calophyllum brasiliense*, estuvo alrededor del 64% para las muestras obtenidas en el predio el Dindo en el corregimiento del Bajo Calima.

5.4 EFECTO ALELOPÁTICO

5.4.1 Efecto sobre la germinación de *Lactuca sativa*. El análisis de varianza demuestra que existen diferencias altamente significativas en relación con el número de semillas germinadas de acuerdo con el tratamiento al que fueron sometidas (Tabla 3).

Es claro que cuando las semillas se tratadas con extracto etanólico incluso a la concentración mas baja del 10%, se obtuvo ya una marcada inhibición de la germinación. Mientras el testigo con agua (T1) logró una germinación del 60%; la germinación obtenida con las semillas tratadas con el extracto al 10% (T2), solo alcanzan 30%. No obstante se reconoce que la germinación en el testigo no fue del 100%, lo que indicaría que las semillas presentan algún grado de latencia natural. Los resultados generales se muestran en la tabla 4.

Tabla 3. Anova para semillas germinadas en promedio

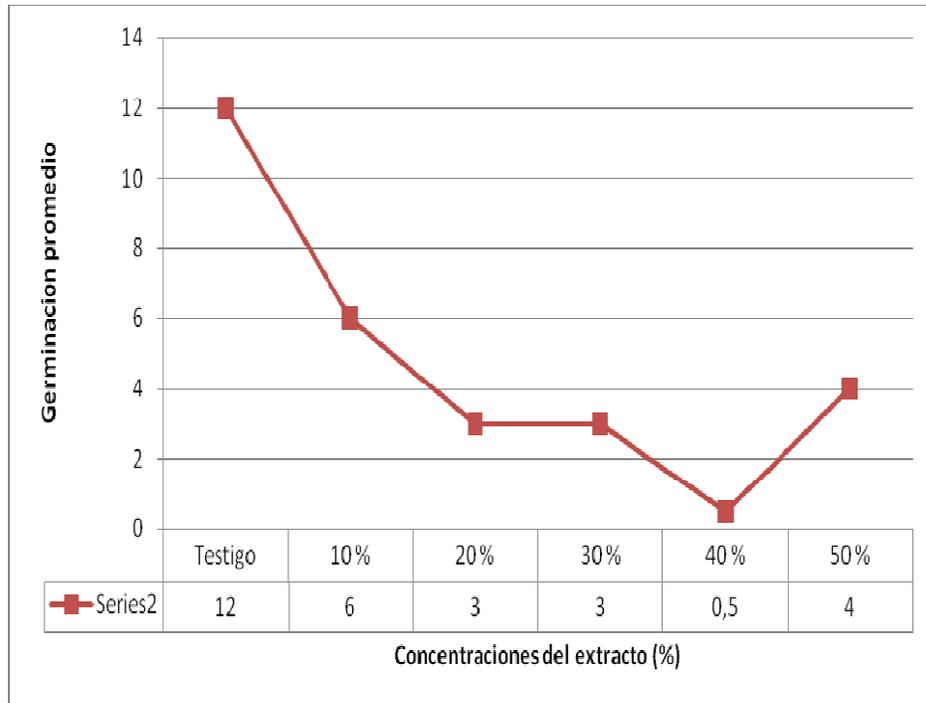
ANOVA					
# semillas germinadas					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intergrupos	157,75	5	31,55	13,0551	0,003
Intragrupos	14,5	6	2,416		
Total	172,25	11			

Tabla 4. Media de número de semillas germinadas a diferentes concentraciones del extracto etanolico de hojas secas de *Calophyllum brasiliense*

TRATAMIENTO	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Testigo	2	12	1,414	11	13
10%	2	6	1,414	5	7
20%	2	3	0	3	3
30%	2	3	1,414	2	4
40%	2	0.5	0,70	0	1
50%	2	4	2,82	2	6

A mayor concentración del extracto etanolico, mayor inhibición de las semillas, alcanzando en el caso del tratamiento del extracto etanolico al 40% (T5) una tasa de germinación de solo del 2.5% (Grafica 4).

Grafica 3. Porcentajes promedio de semillas germinadas a diferentes concentraciones del extracto etanolico.



Efecto sobre la elongación de la radícula de *Lactuca sativa*

La elongación de la radícula de las semillas de *Lactuca sativa* se vio afectada por el tratamiento con el extracto etanolico a cualquiera de las concentraciones evaluadas, aunque entre estas no se presentaron diferencias estadísticas (tablas 5 y 6). En términos absolutos, la mayor inhibición de la elongación la presentó el tratamiento 6 (concentración del extracto etanolico al 50%), tratamiento que no permitió la producción de radículas por las semillas (tabla 6 y gráfica 5).

Grafica 5. Longitud promedio de la radícula de *Lactuca sativa* en diferentes concentraciones del extracto de *C. brasiliense*

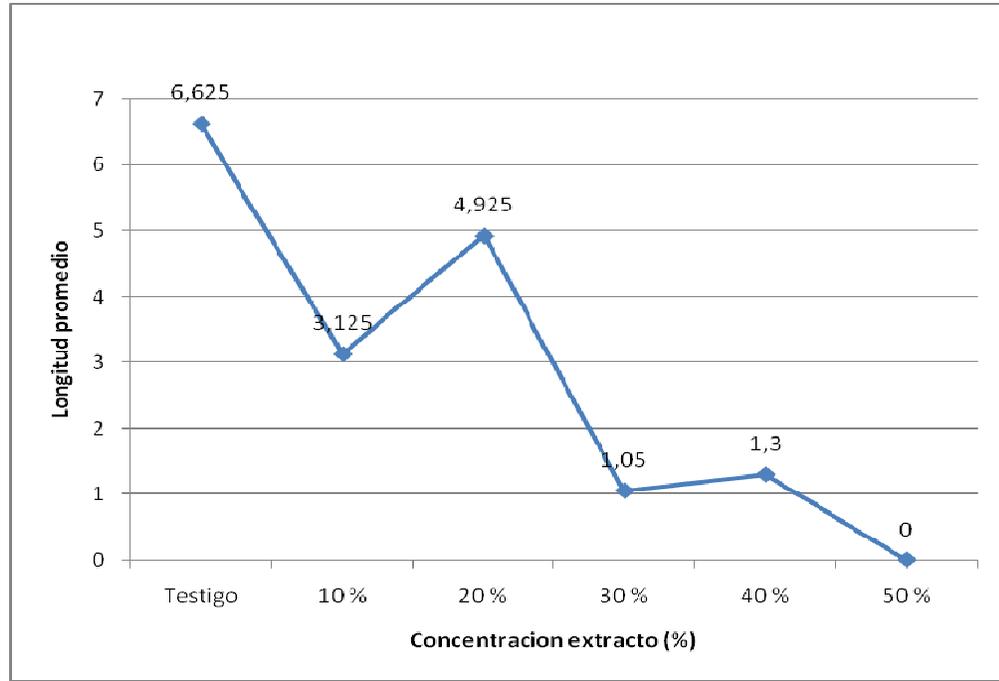


Tabla 5. Anova para la longitud de la radícula

Longitud radícula	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	64,79	5	12,95	2,98	0,107
Intra-grupos	26,05	6	4,34		
Total	90,85	11			

Tabla 6. Media longitud de la radícula de *Lactuca sativa* sobre el efecto inhibitorio del extracto etanólico de la hojarasca de *Calophyllum brasiliense*

Longitud radícula	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Testigo	2	6,62	0,17	6,5	6,75
10 %	2	3,12	4,41	0	6,25
20 %	2	4,92	0,95	4,25	5,6
30 %	2	1,05	1,48	0	2,1
40 %	2	1,3	1,83	0	2,6
50 %	2	0	0	0	0
Total	12	2,83	2,87	0	6,75

6. DISCUSIÓN

Anatomía foliar

A partir de los cortes histológicos de las hojas realizados para cada una de las especies del genero *Calophyllum* (*C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaba*), se menciona una marcada diferencia de la anatomía foliar de estas plantas, en la cual la distribución de los vasos laticíferos, la alta densidad estomática de una especie sobre la otra y el tamaño de sus estomas, la ubican como especies diferentes con poca similaridad y con posibles características funcionales.

Aunque hasta el momento no existían evidencias relacionados con los análisis anatómicos para estas especies, en este estudio se obtuvo información referente a las comparaciones y diferenciaciones entre estas plantas las cuales conlleven a realizar una serie de estudios mas afondo en relación al tema tratado.

Micorrización en *Calophyllum brasiliense*

Según Abbott y Dazey (1994); Allen *et al.* (1995); y Bruns (1995), citados por Guerrero (1996), la micorriza es un factor biológico importante dentro de la estructura y funcionamiento de los suelos, e incide sobre el comportamiento

ecológico, productividad y composición de comunidades vegetales naturales, así como de cultivos agrícolas y plantaciones forestales. Los hongos formadores de micorriza deben ser entonces, parte de la diversidad biológica de los suelos y deben por tanto, ser incluidos tanto en los inventarios como en los análisis de la biodiversidad a nivel de ecosistemas.

Aunque hasta el momento, según la literatura consultada, no existen evidencias de la presencia de hongos micorrizicos asociados al sistema radical para la especie *Calophyllum brasiliense*, en este estudio se encontró evidencia de tal simbiosis para esta planta. Es probable que dicha relación juegue un papel importante en la adaptación a suelos pobres en esta especie, convirtiéndose en factor determinante de estas comunidades vegetales dentro de los diferentes ecosistemas (Sánchez, 1999).

Calophyllum brasiliense, mencionada como especie forestal con características multifuncionales, se constituye entonces en un ejemplo adecuado de comunidades adaptadas a ecosistemas frágiles y poco productivos a través de adaptaciones simbióticas, dentro del pacífico colombiano. El conocimiento logrado en cuanto al porcentaje de colonización por hongos micorrizógenos, plantea preguntas novedosas en relación entre otras, al aporte nutricional de las micorrizas en esta especie, su contribución al desempeño de las comunidades vegetales en general y se constituye además en alternativa para su incorporación en los diferentes sistemas productivos agrícolas o agroforestales en la región Pacífica (Sieverding, 1991; Peña et al, 1999).

Efectos alelopáticos de los extractos foliares de *C. brasiliense* sobre la germinación y elongación de la radícula de *Lactuca sativa*

Según FOUNIER (1985), ciertos compuestos químicos liberados al ambiente logran actuar como inhibidores en la germinación de semillas afectando el crecimiento de otra planta. Estos compuestos alelopáticos pueden ser liberados al ambiente por medio de las plantas a través de exudaciones radicales o a través de la lixiviación y descomposición de residuos de plantas en el suelo; produciendo síntomas de toxicidad en la vegetación aledaña, tales como reducción de la germinación, radículas con escaso desarrollo, muerte de las plántulas y amarillamiento de las hojas.

El efecto de estos compuestos es más pronunciado en el crecimiento de la radícula que sobre la germinación (Días, 1991; Hedge y Miller, 1990), pero los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que los efectos fueron mayores en la germinación que sobre la elongación de la radícula, lo cual contradice lo reportado por estos autores.

Son varios los compuestos con probable actividad alelopática encontrados para la familia *Clusiaceae* y para el género *Calophyllum*: flavonoides, esteroides, terpenos, heterociclos oxigenados, derivados de acilfloroglucinol y xantonas (Schwikkard *et al.*, 2002); benzopiranos, piranocumarinas, xantonas, biflavonoides, triterpenos, coumarinas, cromonas y esteroides (Noldin *et al.*, 2006; Bello *et al.*, 2007).

Los resultados del presente estudio demuestran el efecto inhibitorio del extracto etanólico crudo sobre la germinación de *Lactuca sativa*, el cual podría deberse a la presencia y actividad de estos metabolitos secundarios. Estos compuestos juegan un papel importante en la inhibición bioquímica en la germinación de semillas bajo condiciones de laboratorio (Turner, 1993); lo que posiblemente podría explicar el comportamiento de las semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) bajo el efecto del extracto de hojarasca de *C. brasiliense*.

Para determinar con certeza la presencia de tales metabolitos secundarios en los extractos utilizados en el presente estudio, se sugieren análisis por cromatografía, lo cual permitiría acercarse a la naturaleza química de los compuestos causantes de la inhibición de la germinación y de la represión del crecimiento de la radícula.

7. CONCLUSIONES

- ✓ Existen diferencias anatómicas entre las especies del género *Calophyllum* (*C. brasiliense*, *C. longifolium* y *C. calaba*)
- ✓ Los estomas están mayor pronunciados en la epidermis inferior.
- ✓ En el presente estudio se encontró evidencia de asociación micorrizica para la especie *Calophyllum brasiliense*.
- ✓ El porcentaje promedio de colonización por hifas micorrizicas de las raíces de *Calophyllum brasiliense* fue del 64%, siendo principalmente de carácter intrarradical.
- ✓ El extracto etanolico crudo elaborado a partir de hojas secas de *C. brasiliense* mostró efecto alelopático sobre la germinación de las semillas de *Lactuca sativa* y sobre la elongación de la radícula.

8. RECOMENDACIONES

1. Generar propuestas y estrategias que conlleven a la conservación y protección de la especie *C. brasiliense*
2. Adelantar estudios que conduzcan a la identificación de los hongos que forman parte de la asociación micorrizica con *C. brasiliense*
3. Investigar cuales son los metabolitos secundarios activos en los extractos elaborados a partir de las hojarascas de Aceite maría (*C. brasiliense*)

BIBLIOGRAFIA

- AGUILAR, Girón J., 1986. Relación de unos aspectos de flora útil en Guatemala, Segunda Edición. 383p
- BERNSTEIN, R. 1998. Biología. Décima Edición. Santa Fé de Bogotá. Colombia. Pág. 296 – 297
- BURBANO Orejuela, H., 1989. El suelo: Una Visión sobre sus componentes Biogénicos. Universidad de Nariño. Pasto-Colombia. 141-148 Pp.
- CASTELLANO A. MICHAEL y MOLINA, R., 1989. Manual de Viveros para la Producción de Especies Forestales en Contenedor. Volumen 5. El Componente Biológico: Plagas, Enfermedades y Micorrizas en el Vivero. Washington, DC: U.S. Departamento de Agricultura, Servicio Forestal. 101-167Pp
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). 2000. Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Vol. 1. CATIE, Serie Técnica, Manual Técnico No. 41, 115-116 Pp.
- Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 2000. *Calophyllum brasiliense* camb. Proyecto semillas Forestales (PROSEFOR), Nota técnica sobre manejo de semillas Forestales. 58p.
- CHRISTENSEN, S. 1993. *Weed supression in cereal varieties*. Min. Agric. Statens Planeavlsforsog. Denmark. N° 1. P 104. (Tesis Ph. D.).
- Convenio DNP-CVC-UNICEF. Plan del Desarrollo Integral para la Costa Pacífica (PLADEICOP, 1983). Cali - Colombia Pág. 50 – 78
- Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA) 1995. Aspectos Generales Costa Pacífica Caucana. Regional N° 5, Creced Cauca. Popayán.
- CUELLO, J. y otros, 1996. Ecología y Medio Ambiente. Guía de apoyo al Estudiante. Editorial GR.U.P.O, S.A. Madrid – España. Pág. 118 y 119
- FIGUEIREDO, N., 1979. Rezadores, Pages & pucangas. Belem: Universidad Federal do pará. Serie Pesquisa, 8. 53p
- FOUNIER L. El fenómeno de la alelopatía y su posible aplicación en la agricultura. En: Resúmenes del seminario de Manejo Integrado de Malezas, 1985.

- GEILFUS, Frans. 1989. El Árbol. Manual de Agroforestería para el Desarrollo Rural. Santo Domingo, R.D. 654 Pp.
- HARTMANN, T. Hudson y KESTER, E. Dale, 1997. Propagación de Plantas. Principios y Prácticas. Compañía Editorial Continental, S.A. México. Quinta Reimpresión. Pág. 121 – 204
- IBANEZ VASQUEZ; L, 2007. Efecto Antitumoral, Anti-VIH Y Elucidacion estructural de las hojas y corteza de *Calophyllum brasiliense* de Satipo y Pucallpa. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM. Facultad de medicina humana de la Universidad de Sn Martin de Porres.
- KIMBER, 1973; GUENZI *et al.*, 1967; DIAS, 1991; HEDGE Y MILLER, 1990 citados por SILVA, P., 2002. Efecto alelopático de los rastrojos. Facultad de ciencias agronómicas, laboratorio de relación Suelo-Agua-Planta.
- LARREA ALCAZAR, Daniel M, 2003. Alelopatía: ¿Son las especies buenas predictoras de la respuesta de las especies nativas? Departamento de Ciencias Ecológicas. Universidad de Chile. Santiago, Chile.
- LEME *et al.*, Avalacao do potencial forrageiro de especies florestais. In: Seminario sobre sistemas Agroforestais NA REGIAO SUL DO BRASIL. 1., 1994, Colombo. Anais... Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1994. 147-155pp
- LOVETTY JESSOP, 1982; SAMPIETRO, 2002; NORSTADT Y MC CALLA, 1971 citados por SILVA, P., 2002. Efecto alelopático de los rastrojos. Facultad de ciencias agronómicas, laboratorio de realación Suelo-Agua-Planta
- MEJIA, J. 1995. Manual de Alelopatía Básica y Productos Botánicos. Kingrat, Ltda., Primera Edición. Santafé de Bogotá, Colombia. 83p
- MESA, Vanegas A y otros, 2007. Actividad Antiplasmodial de Extractos de Plantas de *Calophyllum* (Clusiaceae). Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira – Colombia 217-219 pp
- MUÑOZ, A. 2006. Especies Focales de Flora para el Departamento del Quindío. Corporación Autónoma Regional del Quindío. Quindío, Colombia. Pág. 9 – 27, 75 – 79.
- NOLDIN, *et al.*, 2006. *Calophyllum* Genus: Chemical and pharmacological importance. Quim. Nova, Vol. 29, No. 3, 549-554.
- PASA, M.C.; GUARIN NETO, G.; GUARIN, V.L.M.S.; SILVA, J.V.B. da. Reportorio etnobotanico do Guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb.-Guttiferae). In: CONGRESO NACIONAL DE BOTANICA, 51., 2000, Brasilia: Sociedade Botanica do Brasil. 200p

- RICE, A., 1984. Alelopathy. Academic press, New York citado por: RAMIREZ, A.M., 2004. Agricultura alternativa. Manual. Fundación Hogares Juveniles Campesinos. Bogotá, D.C., Colombia. 96p
- ROJAS, GUTIERREZ, A., M, 2007. Aceite maria: Una Especie Multifuncional. En www.revistas-MM.com.
- SANCHEZ de P., M. 1999. Endomicorrizas en: Agrosistemas colombianos. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira. 227p.
- SCHWIKKARD S, Van Heerden F., 2002. Antimalarial activity of plant metabolites. Nat. 675-692, citado por MESA *et al.*, 2007. Actividad antiplasmodial de extractos de la planta *Calophyllum lucidum* (Cluciaceae). Universidad Tecnológica de Pereira.
- SIEVERDING, E. 1991. Vesícula-Arbuscular Micorriza Management in Tropical Agrosystems. GTZ. Germany 370 p.
- SILVA, P., 2002. Efecto alelopático de los rastrojos. Facultad de ciencias agronómicas, laboratorio de relación Suelo-Agua-Planta
- TOKURA, Y.; RONDON, M.A.; VILLANUEVA, G.; BOTERO L.F., 1996. KUN. Especies forestales del Valle del Cauca. Colombia. Pp 37
- TORRES, R.B.; MATTHES, L.A.F; RODRIGUEZ, R.R.; LEITAO FILHO, H. DE F., 1992. Especies forestais nativas para plantio en areas de brejo. O Agronomico, Campinas,v. p13-16
- TRAPPE, J.M., 1996. What is a Mycorrhiza? En: Mycorrhizas in integrated Systems from genes to plant development. Proceedings of the fourth European Symposium on mycorrhizas., p 3-6
- TURNER, L.B., I. Mueller-Harvey & A.B. McAllan. 1993. Light-induced isomerization and dimerization of cinnamic acid derivatives in cell walls. Phytochemistry, 33: 791-796.
- VASQUEZ, Armando y SAAVEDRA Eutimio. Ensayo Agroforestal " ACEITE MARIA" *Calophyllum mariea* y "BOROJO" *Borojoa patinoi* en al Bajo Calima – Valle del Cauca. Buenaventura. 1990.
- VÁSQUEZ, Lucy. 2007. Efecto antitumoral, anti VIH y elucidación estructural de las hojas y corteza de *Calophyllum brasiliense*. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNMSM Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres

- Weaver, P.L. 1990. *Calophyllum calaba* L. María, santa-maría. En: Burns, Russell M.; Honkala, Barbara H., eds. Silvics of North America: 2. Hardwoods. Agric. Handb. 654. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 172-178.

REFERENCIAS ELECTRONICAS

http://www.natureduca.com/conserva_silvicultura1.php

www.faosict.un.hnespecies%20forestalescalophyllum%20brasiliense.pdf

http://www.fundecor.org/bd_maderas/

<http://www.fao.org/docrep/007/y5031s/y5031s0f.htm>

<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v7n1/oliveros.html>

<http://www.salvemoslos.com.py/arary.htm>

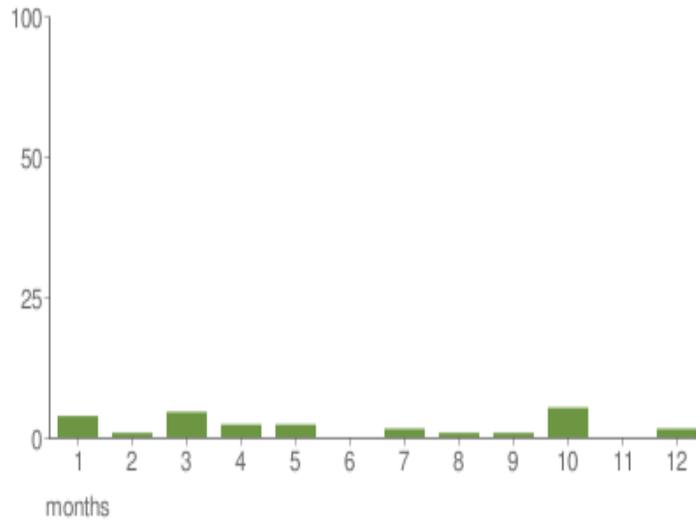
<http://www.monografias.com/trabajos10/tabac/tabac.shtml>

<http://www.Scielo.org.co /scielo.php/script>

<http://www.MINAMBIENTE.gov.co>

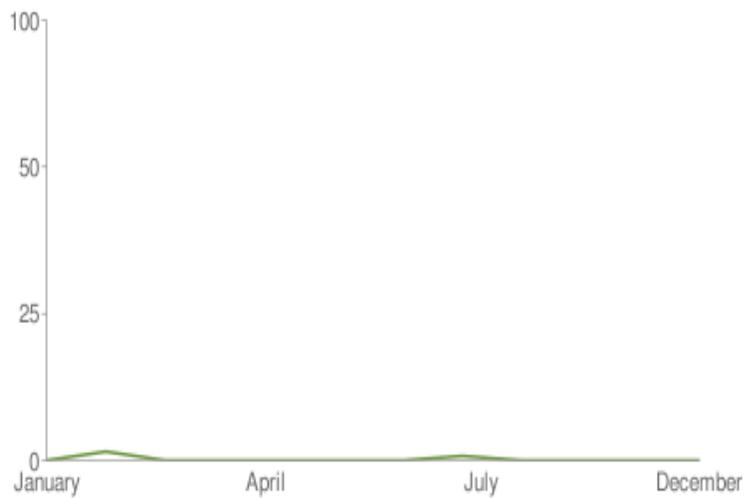
ANEXOS A

FRUCTIFICACIÓN DE *C. BRASILIENSE*. TOMADO DE TRÓPICO (BASE DE DATOS DEL MISSOURI BOTANICAL GARDEN)



ANEXO B

FRUCTIFICACIÓN DE *C. LONGIFOLIUM*. TOMADO DE TRÓPICO (BASE DE DATOS DEL MISSOURI BOTANICAL GARDEN)



ANEXO C

Registro mensual (altura de la planta y numero de hojas) para la especie
C. brasiliense

Numero plantas	Altura Planta (cm)1°	Numero hojas	Altura Planta (cm)2°	Numero hojas	Altura Planta (cm)3°	Numero hojas	Altura Planta (cm)4°	Numero hojas	Altura Planta (cm)5°	Numero hojas
# 1	18	3	23	5	28	6	30	6	30	9
# 2	19	5	24	7	29	7	33	9	38,5	9
# 3	20	4	26	4	26	6	26,5	6	28	6
# 4	20	7	25	9	27	11	30	13	30	13
# 5	19	8	23	10	27	10	28	10	30	12

Continuación tabla

Numero plantas	Altura Planta (cm)6°
31	12
40	10
30	7
31	13
32	12

ANEXO D

Resultados de Germinación de las Semillas de Lechuga (*Lactuca sativa*)

