

# POTENCIAL ALELOPATICO DE LOS LIXIVIADOS ACUOSOS Y LOS EXTRACTOS ORGANICOS DE *Artemisia absinthium* (ASTERACEA)

ALLELOPHATIC POTENTIAL OF THE WATERY LEACHATES AND ORGANIC EXTRACT FROM *Artemisia absinthium* (ASTERACEA)

Elizabeth MURILLO P.<sup>1</sup> \* Lina M. DE LOS REYES<sup>1</sup>

## RESUMEN

Los cultivadores de arroz en el Tolima (Colombia), han tenido que afrontar dificultades debido a que el cultivo es altamente atacado por la presencia de plantas invasoras (arvenses). Dado que las especies del género *Artemisia* reciben creciente atención de los investigadores debido a la diversidad biológica y química de sus constituyentes, es interesante estudiar su potencial como inhibidores del desarrollo vegetativo de la gramínea considerada como una de las especies que mayor daño ocasiona al cereal. El potencial alelopático de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de *Artemisia absinthium* sobre la germinación y el desarrollo radicular de *Echinochloa colonum* (liendre puerco) ha sido evaluado. La velocidad de germinación de *E. colonum* guarda relación directa con la concentración de los lixiviados acuosos y de los extractos orgánicos; las fracciones etanólica y diclorometánica impiden la frecuencia mitótica en proporción directa a su concentración. Es muy pobre el efecto inhibitorio de los lixiviados sobre la frecuencia mitótica. La mezcla etanol-agua 95:5 muestra el mayor efecto alelopático. Los resultados confirman el potencial alelopático de *A. absinthium*.

**Palabras clave:** *aleloquímicos, Artemisia absinthium, Echinochloa colonum, fitotoxicidad, frecuencia mitótica.*

## ABSTRACT

The rice cultivators in Tolima (Colombia) face up to difficulties because the cultivation is highly attacked by the presence of invader plants (arvenses). Since the species of the gender *Artemisia* are receiving increasing attention due to the biological and chemical diversity of their constituents, it is interesting to study their potential use as inhibitors of vegetative development of the gramineous, which is considered as one of the species that causes the biggest damage to the rice. Some bioassays are carried out to establish the allelopathic potential of the watery leachates and organic extracts of *Artemisia absinthium* on the germination and root growth of *Echinochloa colonum*. Both leachates and organics extracts present a phytotoxic inhibitory effect on the germination speed, and this effect is directly proportional to their concentrations. The mitotic frequency is blocked by the methylene chloride and ethanolic fractions, and the blocking is directly proportional to the concentration. The inhibition effect of the leachates on the mitotic frequency is minimum. The etanol-water mixture 95:5 shows the highest allelopathic effect. The results confirm the allelopathic potential of *Artemisia absinthium*.

**Key words:** *Allelochemicals, Artemisia absinthium, Echinochloa colonum, phytotoxicity, mitotic frequency*

---

1 Departamento de Química. Laboratorio de Fitoquímica. Universidad del Tolima. Barrio Santa Elena. A.A. 546. Ibagué - Tolima. Colombia.

\* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: emurillo8@hotmail.com, emurillo17@andinet.com

## INTRODUCCION

El departamento del Tolima es un importante productor de arroz (*Oriza sativa*) en Colombia, aportando el 30.8% de la producción nacional anual (1). No obstante, desde el comienzo de su agricultura a gran escala, los cultivadores de este cereal han tenido que enfrentarse a diferentes problemas que afectan el rendimiento y desarrollo de sus cosechas; tal como, el ataque por plantas invasoras (arvenses), cuyo tipo y naturaleza depende del sistema de cultivo: secano o de riego.

En el Tolima, como en la mayoría de los departamentos arroceros, la utilización de herbicidas es una práctica casi indispensable en la producción del grano de arroz. Una consecuencia de estas prácticas es el elevado porcentaje de plantas con diversos grados de resistencia a ellos, lo que conlleva al aumento de las dosis de aplicación de los herbicidas, acelerando aún más el proceso de resistencia y elevando los costos de producción. (2).

El fenómeno por el cual una planta ejerce un efecto sobre otra mediante la liberación de sustancias químicas, se conoce como alelopatía, y a las sustancias químicas que libera el vegetal son reconocidas como aleloquímicos e incluyen herbicidas naturales y fitoalexinas, entre otros. Además de su poder fitotóxico, los aleloquímicos preservan el nicho ecológico.

Las especies del género *Artemisia* se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, son frecuentemente utilizadas para el tratamiento de enfermedades tales como la malaria, (3, 4, 5, 6), hepatitis, cáncer, inflamaciones e infecciones causadas por hongos, bacterias y virus (7, 8, 9, 10, 11). Este género está recibiendo una creciente atención presumiblemente debido a la diversidad biológica y química de sus constituyentes y a la rica fuente de material vegetal (12).

En este estudio se evaluó el potencial alelopático de *Artemisia absinthium* sobre la germinación y el desarrollo radicular de “lien-

dre puerco” (*Echinochloa colonum*), una gramínea catalogada como una de las especies que mayor daño ocasiona a los cultivos de arroz (*Oriza sativa*) en el Tolima. El modo de acción fue determinado por medio de los índices de velocidad de germinación, velocidad de ganancia de peso y frecuencia mitótica.

## MATERIALES Y METODOS

### Preparación de los lixiviados y de los extractos

Hojas y tallos de *A. absinthium*, colectadas en el municipio de Palocabildo (1500 m.s.n.m., temperatura promedio de 20 °C) sirvieron de base para la preparación de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos.

Con el material seco (30-40°C) y triturado se empacó una columna de vidrio (50 cm x 3 cm) y se lavó el vegetal con agua destilada (200 cm<sup>3</sup>) a temperatura ambiente. El solvente se hizo circular por la muestra las veces necesarias hasta saturarlo, después de lo cual se inició un proceso similar con otra porción fresca. El método se repitió las veces necesarias hasta agotar la muestra. Los lixiviados se guardaron en frascos ámbar y se almacenaron en nevera (4°C) hasta su aplicación final.

Para la preparación de los extractos orgánicos se aplicó el método de maceración, utilizando como solventes diclorometano y mezcla de etanol-agua 80:20 y 95:5. Cada 24 horas el solvente se retiró y almacenó, procedimiento que fue repetido hasta el agotamiento de la matriz vegetal. Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida, se les evaporó el solvente, los residuos sólidos se almacenaron en respectivos frascos ámbar y se guardaron tapados y rotulados en nevera (4°C) hasta su utilización.

Los residuos sólidos de los lixiviados y de los extractos orgánicos concentrados se resuspendieron en agua destilada para preparar diluciones de 100, 300 y 500 mg/ml.

Los ensayos biológicos se realizaron sobre semillas de *Echinochloa colonum* (L) recolectadas en el municipio de Espinal, en CORPOICA, (Nataima, 323 m.s.n.m. y temperatura ambiental promedio de 29 °C).

**Velocidad de germinación**

En cajas de Petri de 9 cm, se impregnó una hoja de papel filtro con 6 ml del tratamiento respectivo, a continuación se colocaron 10 semillas por cada caja, y ésta con su contenido se

incubó durante 48 horas, a 35° C y en total oscuridad. Al final de este tiempo se procedió a la determinación de las variables. Se hicieron 10 réplicas por cada tratamiento y el respectivo testigo (agua destilada). Se consideró como semillas germinadas, aquellas que presentaran visible la coleorriza (1 mm). Las condiciones iniciales se mantuvieron dentro de la caja de Petri, recuperando el extracto evaporado.

La velocidad de germinación ( $S_g$ ) se determinó mediante la siguiente ecuación (13):

$$\Sigma_g = \frac{n1d1 + n2d2 + n3d3 + n4d4 + n5d5 + n6d6 + n7d7 + n8d8}{10} \times 100$$

En donde:

$\Sigma_g$  = Velocidad de Germinación

n1...n8: Número de semillas germinadas en los días 1, 2, 3,.....,8

d1...d8: Valor arbitrario a los días 1, 2, 3, .....8. Son una secuencia decreciente desde el primer día (que tiene el mayor valor e igual a 8), hasta el último día (que tiene el menor valor e igual a 1)

10: Número de semillas empleadas en la prueba

100: Número de semillas establecidas como referencia

**Ganancia de peso**

La ganancia de peso permite evaluar el proceso de imbibición. Básicamente es el mismo índice anterior, pero no se emplea el número de semillas germinadas en el día sino el peso de dicha semilla. Para su evaluación se utilizó la siguiente ecuación (13):

$$VGP_g = \frac{n1d1 + n2d2 + n3d3 + n4d4 + n5d5 + n6d6 + n7d7 + n8d8}{10} \times 100$$

Donde:

VGP<sub>g</sub>: Velocidad de ganancia de peso

n1...n8: Peso de las semillas germinadas en los días 1, 2, 3,.....,8

d1...d8: Valor arbitrario a los días 1, 2, 3,.....,8. Corresponden a una secuencia decreciente, desde el primer día (que tiene el mayor valor e igual a 8), hasta el último día (que tiene el menor valor e igual a 1)

10: Número de semillas empleadas en la prueba

100: Número de semillas establecidas como referencia

### Frecuencia mitótica

Las raíces se fijaron en una solución de ácido acético-etanol (1:3), por 48 horas. Colocadas sobre un portaobjeto se realizó un corte de 2 mm a cada raíz, se agregaron 2 gotas de orceína y se llevaron a cámara húmeda durante 24 horas; después de disminuir el grosor del tejido con un pequeño martillo se retiró el exceso del colorante y se procedió a su fijación. Los cromosomas se observaron en el objetivo de 40X, se realizó el conteo y posteriormente se calculó el índice mitótico (14). Las placas se guardaron en nevera para su conservación.

$$\text{Frecuencia mitótica} = \frac{\text{Número de células en metafase}}{\text{Número total de células observadas}}$$

Todos los bioensayos se repitieron 10 veces, los tratamientos y el blanco tres veces cada uno.

### Análisis fitoquímico

Tomando como base la capacidad del etanol para extraer metabolitos dentro de una amplia gama de polaridades, se tomó como base este extracto para realizar sobre él un análisis fitoquímico preliminar siguiendo la metodología recomendada por Sanabria (15) y Domínguez (16).

### Análisis estadístico

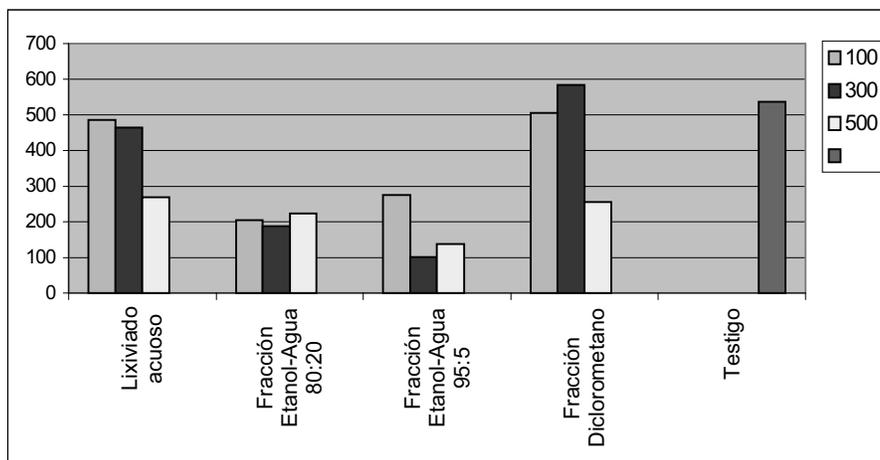
El efecto de los lixiviados acuosos y de los extractos orgánicos de *A. absinthium* se evaluó

mediante el análisis estadístico univariado (ANOVA) por variable respuesta y se complementó con un análisis multivariado (MANOVA); se propuso un método multivariado complementario: el análisis factorial de componentes principales. Se emplearon los programas estadísticos Minitab-win (17) y E.S.M-PLUS (18), tomando la velocidad de germinación y la ganancia de peso como variables interrelacionadas y la frecuencia mitótica como variable independiente. Al momento de realizar el análisis para frecuencia mitótica se tomaron 5 réplicas al azar de cada tratamiento.

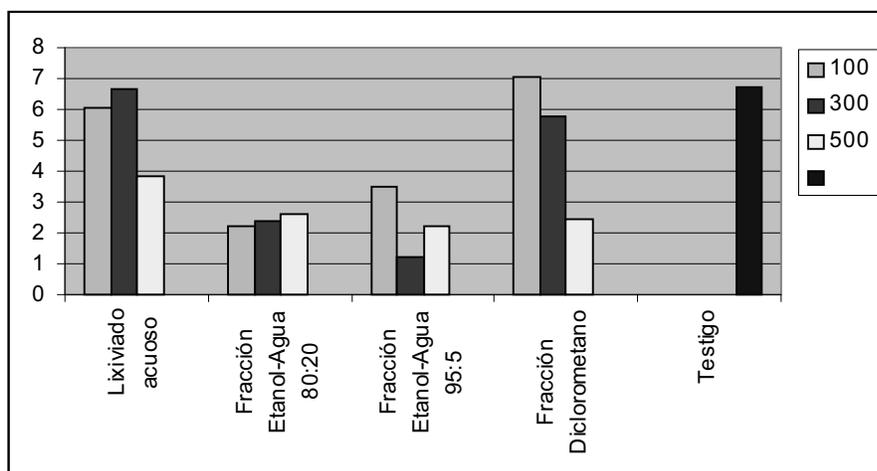
## RESULTADOS Y DISCUSION

Las figuras 1 y 2 dejan ver, de manera comparativa, los valores medios obtenidos del índice de velocidad de germinación y de ganancia de peso de los lixiviados acuosos y de los extractos orgánicos en relación al testigo, respectivamente.

En lo que tiene que ver con el índice de velocidad de germinación, la figura 1 muestra poca diferencia a las dosis de 100 y 300 µg/ml en todos los tratamientos. A este nivel, el lixiviado acuoso y el extracto diclorometánico se diferenciaron poco del testigo, incluso esta última concentración llegó a superarlo. El mayor efecto inhibitorio lo manifestaron los tratamientos a la dosis de 500 µg/ml. En general mostraron mayor actividad las mezclas hidroalcohólicas, y



**Figura 1.** Valores medios del índice de velocidad de germinación



**Figura 2.** Valores medios del índice de ganancia de peso

de ellas, la combinación etanol-agua 95:5 fue la de mejor comportamiento. Cuando el etanol y el agua se mezclaron en proporción 80:20, no pareció existir ninguna diferencia entre las concentraciones aplicadas.

El lixiviado acuoso y el extracto de diclorometano, preparados a 100 y 300 µg/ml, permitieron que *E. colinum* ganara peso en la misma forma que el testigo (Fig. 2), incluso llegaron a superarlo aunque en diferentes concentraciones. Sampietro (19), sostiene que muchas sustancias con actividad alelopática tienen efectos benéficos a bajas concentraciones y, superado un determinado umbral, actúan negativamente sobre la planta receptora. El hecho de que el vegetal sobre el cual actuaron los extractos de *Artemisia absinthium* (L) hubiera incrementado su germinación y ganancia de peso es indicativo de que hubo interacción entre los dos organismos vegetales y muestra que la inhibición no se debe a intoxicación ocasionada por el complejo metabólico de compuestos suministrado en altas dosis, sino más bien a cambios fisiológicos provocados por los aleloquímicos encontrados en el ajeno.

Cabe señalar de nuevo que las mezclas hidroalcohólicas fueron las más activas y las que mostraron mayor efecto inhibitorio. Sin embargo, la combinación de etanol-agua 95:5, a la dosis de 300 µg/ml, impidió con mayor potencia la ganancia de peso de liendre puerco. A la con-

centración de 500 µg/ml, todos los tratamientos manifestaron fuerte actividad. Cuando se determinaron los intervalos de confianza individuales para las medias, a un nivel de confianza del 95%, para la ganancia de peso y la velocidad de germinación, se corroboraron los planteamientos anteriores.

Estos resultados son similares a los encontrados por otros investigadores (20), quienes compararon la fitotoxicidad de una serie de sesquiterpenlactonas análogas con respecto a la artemisinina obtenida de *Artemisia annua*. Midiendo diferentes respuestas fisiológicas, entre ellas, el crecimiento de las raíces, encontraron que la artemisinina y sus análogas impedían el crecimiento radicular en proporción directamente proporcional a la concentración. Es importante mencionar que en el extracto etanólico crudo de *Artemisia absinthium* se encontraron lactonas terpénicas en abundante cantidad.

Recientes estudios han demostrado que la mayor fracción estructural de las sesquiterpenlactonas, un α, β-insaturada-γ-lactona, está asociada con actividad antitumoral, citotóxica, antimicrobial y fitotóxica. Estas bioactividades guardan relación directa con la presencia de grupos altamente electrofílicos en la molécula. De estos, los grupos sulfidrilos de las proteínas, específicamente los grupos tioles, sufren alquilación selectiva (adición tipo Michael), en presencia de otros nucleófilos. Una reacción clási-

ca de una  $\alpha$ -metilbutirolactona es la mostrada en la figura 3, en donde **a** funciona como un aceptor tipo Michael de grupos tóles **b**, produciendo el aducto **c**. Podría asumirse que exactamente tal reacción explica las propiedades farmacológicas de las sesquiterpenlactonas (21).

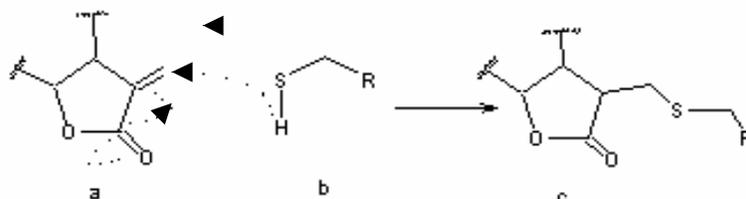
Sin embargo, debe resaltarse que otro grupo de investigadores (22), evaluaron los efectos de las hojas, extractos de hojas y la artemisinina pura sobre el crecimiento de algunas plantas. Empleando extracto acuoso y diclorometánico, encontraron que el extracto acuoso, el cual no contiene artemisinina, mostraba actividad similar al tratamiento de artemisinina pura y que la artemisinina a niveles equivalentes a los contenidos en el extracto diclorometánico poseía significativamente menor efecto en la germinación y crecimiento de algunas de las plantas estudiadas que el extracto diclorometánico, por lo anterior, concluyeron que los efectos alelopáticos de *Artemisia annua* (L) no podían ser atribuidos solamente a la artemisinina.

La figura 4 muestra los intervalos de confianza individuales para las medias, a un nivel de confianza del 95%, de la frecuencia mitótica.

Se observa diferencia entre la acción de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos. Se evidencia a la mezcla etanol-agua 95:5, como la que manifiesta mayor inhibición de la fase mitótica de *E. colonum*.

Como se observa en la figura 5 la dosis de 100  $\mu\text{g/ml}$  en todos los tratamientos, es la de menor influencia en la división celular, exceptuando en la fracción diclorometano en donde la menos influyente es la de 300  $\mu\text{g/ml}$ . En este caso también se percibe que la mezcla etanol-agua es la que mayor efecto tiene sobre la inhibición de la división celular, siendo la mezcla hidroalcohólica de 95:5 a concentraciones de 300 y 500 mg/ml, la que más mostró potencial inhibitorio.

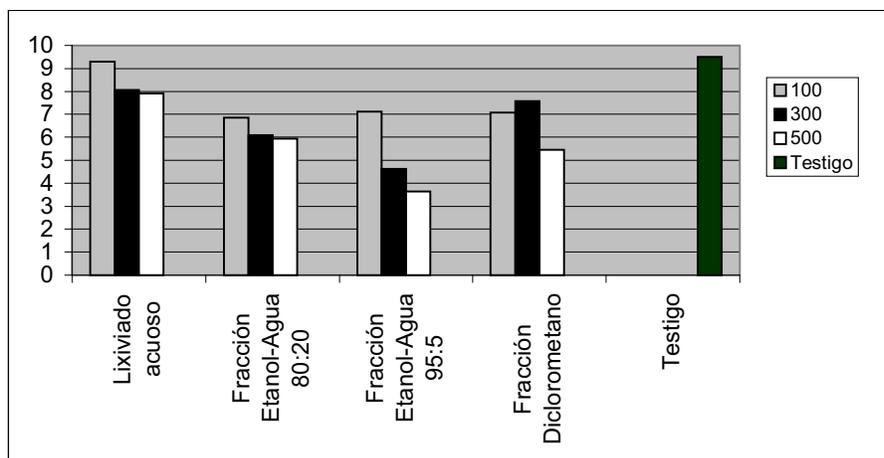
Dayan *et al.* (20) probaron que la artemisinina (sesquiterpenlactona) y sus análogos evitan la inducción del ciclo celular donde pocas células fueron activamente divididas y reducidos los estados de la mitosis fueron reducidos; sugiriendo que evitan la inducción del ciclo celular. Estos estudios indicaron que ninguna causó daño a la membrana celular y todas provocaron síntomas similares, lo que sugiere que actúan de la misma manera, aunque no se pudo estable-



**Figura 3.** Reacción de un  $\alpha$ -metilbutirolactona como un aceptor tipo Michael de grupos tóles

NIVEL	N	MEDIA	STDEV	-----+-----+-----+-----+
LIX. ACU	5	0.004940	0.002417	(---*---)
E-A (80:20)	5	0.000480	0.000858	(---*---)
DICLORO	5	-1.9E-03	0.000886	(---*---)
E-A (95:5)	5	-3.5E-03	0.001617	(---*---)
POOLED STDEV =				0.001580 -0.0035 -0.0000 0.0035 0.0070

**Figura 4.** Intervalos de confianza individuales para las medias a un nivel de confianza del 95%, del índice mitótico



**Figura 5.** Valores medios del índice mitótico ( $10^{-3}$ ) de las raíces de *Echinochloa colonum* (L) bajo la acción de los lixiviados y extractos de *A. Absinthium*.

cer claramente el mecanismo por el cual actúan las sesquiterpenlactonas, pero la inhibición de la división celular es un efecto directo del mecanismo de acción de estas.

El análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico, de las partes aéreas de *Artemisia absinthium*, evidenció la presencia de esteroides y triterpenoides, cumarinas, alcaloides de polaridad diversa, lactonas terpénicas y flavonoides; estos dos últimos metabolitos en cantidad abundante. Hoffmann y Herrmann (23), reportaron que la planta contiene cantidades apreciables de flavonoides, a estos metabolitos se les atribuyen algunas bioactividades tales como provocar alteraciones en el balance hormonal de la planta receptora, lo cual en ciertos casos conduce a una inhibición del crecimiento (función alelopática), función que coincide con los resultados evidenciados en este trabajo. Además, parecen interferir en la organización funcional o estructural del cloroplasto; algunos inhiben la absorción mineral, alterando la permeabilidad de las membranas celulares (19). La actividad alelopática observada en *A. absinthium* podría estar quizá relacionada con algunos de estos procesos. Otros metabolitos encontrados en el extracto etanólico de *Artemisia absinthium* (L) fueron esteroides y/o triterpenoides, los cuales poseen bioactividades igualmente importantes (actividad anticancer y efectos sobre la membrana celular) (15).

Todo lo anterior permite afirmar que posiblemente la actividad evidenciada por la parte aérea de *A. absinthium* sobre la germinación, la ganancia de peso y el crecimiento radicular de *Echinochloa colonum*, no es provocada únicamente por las sesquiterpenlactonas sino más bien por el conjunto de metabolitos secundarios encontrados en mayor o en menor proporción en los extractos. Debe tenerse en cuenta, que debido a la diversa naturaleza química de los agentes alelopáticos, es posible que exista más de un mecanismo de acción que explique la manera en que éstos actúan sobre la planta receptora. Podría entonces explicarse por interacciones sinérgicas y aditivas entre ellos, lo cual dificulta determinar la actuación de cada compuesto.

## CONCLUSIONES

De *A. absinthium* (L) se determinó el potencial fitotóxico de los lixiviados acuosos, fracciones etanólicas y diclorometánicas mostrando que todos poseen fitotoxicidad mediante la inhibición de la germinación y el crecimiento radicular de liendre puerco, *Echinochloa colonum* (L), siendo la fracción etanólica la de mayor efecto inhibitorio.

El efecto alelopático de los lixiviados acuosos y del extracto diclorometánico de la parte aérea de la *Artemisia Absinthium* sobre las se-

millas de liendre puerco, es mínimo. La mayor actividad la evidencian estos tratamientos a 500 µg/ml. En contraposición, las mezclas etanol-agua (95:5 y 80:20) revelaron un efecto fitotóxico directamente proporcional a la concentración, siendo la proporción 95:5 la más activa a 300 y 500 µg/ml.

## BIBLIOGRAFIA

1. FEDERACION NACIONAL DE ARROCEROS (2000) II Censo Nacional Arrocero. Fondo Nacional del Arroz. División Nacional de Investigación económica. Santa fe de Bogotá D.C.
2. Fisher, A., Pabon, H. Desarrollo de resistencia a herbicidas en poblaciones de malezas. Pp 7-13 (sin más datos).
3. Chawira, A. N., "et al" (1.987) The effect of ginghamosu (Artemisinin) with standart antimalarial drugs in the supressive treatment of malaria in mice. Trans. R Soc Trop. Med. Hyg. 81 (4), pp. 554-558.
4. Sharma, P, and Sharma, J. D. (1.998) Plants showing antiplasmodial activity from crude extracts to isolated compounds. Indian. J. Malarial. 35 (2) : 57-110.
5. Wilairatana, P, "et al" (1.998) A comparison of three different dihydroartemisinin formulations for the treatment of acute uncomplicated falciparum malaria in Thailand. Int. J. Parasitol. 28 (8) : 1213-1218.
6. Van, M. A., Eggelte, T. A., and Van, C. S. (1.999) Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. Trends. Pharmacol. Sci. 20 (5): 199-205.
7. Allen, P.C., Lydon, J. L., Danforth, H. D. (1.997) Effects of components of Artemisia annua on coccidia infections in chickens. Poultr. Sci. 6 (8) : 1156-1163.
8. Wood, M., Schollenberger, M., Zamorsky, C. (1.997) Effects of extracts of four medicinal plants on growth of selected fungi and bacteria. Annals of Warsaw Agricultural university SGGW, Horticulture. No. (18) : 41 - 52.
9. Mangena, T., Muyima, N. Y. (1.999) Comparative evaluations of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisia afra, Petronia incana and Rosmarinus officinalis on selected bacteria and yeast strains. Lett Appl Microbiol. 28 (4) : 291-296
10. Tan, R.X., "et al" (1.999) Mono and sesquiterpenes and antifungal constituents from Artemisia species. 65 (1): 64-67.
11. Tang, H.Q., "et al" (2.000) Terpenoids and flavonoids from Artemisia species. Plant. Med. 66 (4) : 391-393.
12. Tan, R.X., Zheng, W.F., Tang, H.Q. (1998) Biologically active substances from the genus *Artemisia*. Planta Med. 64 (4) : 295-302.
13. Casallas, H., Lozano, M. B. (1.998) Efecto del potencial osmótico en la velocidad de germinación y déficit crítico de saturación hídrica en cultivares de arroz (*Oriza sativa* L.). Tesis de Grado (Ingeniero Agrónomo). Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad del Tolima. Ibagué, pp. 40-44.
14. Aanaya, A.L., Pelayo-Banavides, H. R. (1.997) Ellelopathic potencial of *Mirabilis jalapa* L. (Nyctagenacea): Effects on germination growth and cell division of some plants. Allelopathy Journal 4 (1) : 57-68.
15. Sanabria, A. (1983) Análisis Fitoquímico Preliminar. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia. Bogotá. D. E, pp. 113.
16. Dominguez, X. A. (1973) Métodos de Investigación Fitoquímica. Centro Regional de Ayuda Técnica. Agencia para el Desarrollo Internacional. AID. Buenos Aires.
17. Minitab/windows. Minitab Inc. (Sin más datos)
18. E.S.M-PLUS. V7.1. Jairo A. Clavijo. Universidad del Tolima. (Sin más datos)
19. Sampietro, D. A. (2002) Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. Cátedra de Fitoquímica. Instituto de Estudios Vegetales "Dr. Antonio R. Sampietro". Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán. Argentina, pp. 1-25.
20. Dayan, F. E. (1999) Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. Phytochemistry. 50 : 607-614.
21. Miñpsavljevic, S., Bulatovic, V., Stefanovic, M. (1999) Sesquiterpene lactones from the Yugoslavian wild growing plant families Asteraceae and Apiaceae. J. Serb. Chem. Soc. 64 ( 7-8.) : 397- 442.
22. Lydon, J., Teasdale, J. R., Chen, P. K. (1997) Allelopathic activity of annual wormwood (*Artemisia annua*) and the role of artemisinin. Weed Science, 45 : 807-811.
23. Hoffman, B., and Herrmann, K. (1982) Flavonol glycosides of wormwood (*Artemisia vulgaris*), tarragon (*Artemisia dracunculus*) and absinthe (*Artemisia absinthium*). 8. Phenolics of spices. Z. Lebensm-Unters. Forsh. 174 (3): 211-215.

## AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen el apoyo financiero al Comité Central de Investigaciones y a los Laboratorios de Fitoquímica de la Universidad del Tolima la logística facilitada en el desarrollo de esta investigación.