

Indíces de crecimiento y formación de compuestos orgánicos en *Barleria lupulina* sometida a dos condiciones de luminosidad

Growth parameters and organic compound production of *Barleria lupulina* under two light conditions

A. Páez¹, M. E. González¹, J. A. Urdaneta¹, D. Paredes¹,
D. Tissue² y T. Tschaplinski³

Resumen

Barleria lupulina Lindl es un arbusto introducido a Venezuela desde África con fines ornamentales. Pertenece a la familia Acanthaceae. Esta planta es conocida desde tiempos ancestrales en la cultura popular de países como India y Pakistán por sus características antiofidicas. También se le han atribuido propiedades analgésicas. Debido a su importancia en la medicina natural, se han realizado en nuestro laboratorio algunos estudios en relación con este arbusto. En el presente trabajo se investiga la respuesta de las plantas, después de crecer por dos años en dos ambientes lumínicos diferentes: luz solar total y sombra parcial. Se realizaron determinaciones de carbohidratos solubles y glucósidos fenólicos como derivados trimetilsilil L mediante cromatografía de gases y espectrofotometría de masa. Se encontró poco efecto del sombreado sobre las concentraciones de esos compuestos. Las mediciones de la tasa fotosintética, utilizando un medidor portátil de fotosíntesis, reflejan que cuando las plantas crecieron en luz solar total, la saturación lumínica se obtuvo aproximadamente a $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las respuestas de aclimatación a la baja irradiación comprenden un aumento en la relación de área foliar (RAF), simultáneamente con disminución del peso foliar específico (PFE) desde las fases tempranas del crecimiento. Este último es un componente importante de la respuesta a la luz. Posteriormente se observó también una disminución en la relación raíz/vástago (R/V). Consideramos que el crecimiento de *B. Lupulina* es bastante plástico en su respuesta a la luz.

Palabras claves: *Barleria lupulina*, aclimatación, luminosidad, plantas medicinales.

Abstract

Barleria lupulina Lindl is a shrub introduced to Venezuela from Africa with ornamental purposes. It belongs to the Acanthaceae family. This plant has

Recibido el 15-08-1998 • Aceptado el 17-10-1998

1. Facultad de Ciencias, La Universidad del Zulia, Apartado 526, Maracaibo, Venezuela.

2. Texas Tech. University. Department of Biology. Luwcock, TX 79409-3131, USA

3. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN 37831 USA

been known since ancestral times in folk culture of countries such as India and Pakistan, due to the possible snake poison neutralizing capacity. It is also known for its analgesic properties. Due to these characteristics in natural medicine, some studies have been undertaken in relation with this shrub. In the present work we investigated the plant response to light by growing the plants for two years under two different light environments: full sun light and partial shade. Soluble carbohydrates and phenolic glucosides as trimethylsilyl L derivatives were determined by gas chromatography and mass spectrometry. The results related to these compounds show little effect of shading on their concentrations. The photosynthetic measurements, using a portable photosynthetic system reflect that when the plants grew in full sun, light saturation was obtained near $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The acclimation responses of *B. lupulina* to the lower light regime include an increase in leaf area ratio (LAR), simultaneously with a decrease in specific leaf weight (SLW) since early growth phases. The last parameter is an important component in the response to light. A decrease in root/shoot ratio (R/S) was observed afterwards. We consider that growth of *B. lupulina* is plastic in its response to light.

Key words: *Barleria lupulina*, acclimation, light, medicinal plants.

Introducción

Investigaciones recientes sobre la planta *Barleria lupulina* Lindl, miembro de la familia Acanthaceae, indican que posee propiedades antiofídicas y analgésicas (7, 12), ya que el extracto acuoso de sus hojas es eficiente para contrarestar el veneno de la serpiente *Crotalus durissus cumanensis* (12). Esta planta está representada en Venezuela con 45 géneros y 290 especies. El género *Barleria* tiene dos especies que han sido introducidas a Venezuela (1, 9). Sin embargo se conoce poco en relación con este arbusto que posee potencialmente tanta importancia medicinal (10, 13). Como parte de una serie de investigaciones sobre la ecofisiología de plantas medicinales, se planteó la necesidad de estudiar los efectos de la irradiación sobre el crecimiento y las características fotosintéticas de *B.*

lupulina, determinando la posible aclimatación de su aparato fotosintético a la irradiación y algunos cambios en ciertas características foliares que ayuden a explicar su aclimatación.

En general, se pueden utilizar diferentes estrategias para lograr la maximización en el uso del área fotosintéticamente activa como, por ejemplo, mediante la disminución del peso foliar específico (PFE). Algunos estudios muestran que este tipo de respuesta es casi universal, pero puede haber marcadas diferencias entre especies (3). Los cambios en el PFE parecen involucrar cambios en la proporción del material foliar fotosintéticamente inactivo a fotosintéticamente activo. Existe poca información en relación con este aspecto, pero ciertos estimados indican

que una reducción en el pool de fotosintetizados, principalmente azúcares y almidón, podrían ser causantes de hasta un 20% de disminución en el PFE (3). En este estudio se propuso investigar los efectos de la irradiación sobre algunos parámetros de crecimiento a través de la técnica de análisis de crecimiento, a fin de detectar posibles cambios en la distribución de biomasa y relacionar

estos cambios con las características fotosintéticas y producción de compuestos orgánicos. Para ello, las plantas de *B. lupulina* crecieron bajo dos ambientes lumínicos diferentes, y se realizaron mediciones de tasa fotosintética, análisis de crecimiento, distribución de fotosintetizados, análisis de carbohidratos solubles y de glucósidos fenólicos por su importancia medicinal potencial.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó bajo condiciones ambientales de campo en una zona anexa a la Facultad de Ciencias de La Universidad del Zulia, utilizando dos regímenes lumínicos diferentes para el crecimiento de las plantas: luz solar total con valores que pueden exceder a los $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y sombra parcial (30% de luz solar). Todas las plantas fueron obtenidas a partir de semillas. Las crecidas a sombra parcial estaban ubicadas en un umbráculo. Cuando las plantas tuvieron aproximadamente 5 cm de longitud, se dejó una sola por recipiente (bolsas de polietileno de 50 L de capacidad), obteniéndose una población uniforme mediante raleos a fin de eliminar las plantas más altas y más pequeñas. Se realizaron riegos diarios y fertilizaciones cada dos meses con $\text{N:P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}$ (15-15-15).

El diseño utilizado fue completamente aleatorizado con cinco repeticiones por tratamiento y el experimento fue replicado. La mitad de las plantas estaban colocadas bajo luz solar total y la otra mitad en el umbráculo (sombra parcial). Se

realizaron 3 cosechas, es decir, cuando las plantas tuvieron 20, 50 y 100 días después de la germinación. En cada cosecha se utilizaron 5 plantas al azar por régimen lumínico. Ya que el experimento tenía repetición, se cosechaba un total de 10 plantas.

En cada caso, las plantas fueron separadas en hojas, tallos y raíces. Las raíces se lavaban con cuidado y se colocaban separadamente en bolsas de papel para el secado en una estufa a 60°C por 3 días. Después de medir el área foliar mediante un medidor de área foliar LiCor modelo 3100, los tallos y las hojas se colocaban separadamente en bolsas de papel y se llevaban a la estufa por 3 días a 60°C . Después de este tiempo, se tomaban los pesos secos.

Se realizó análisis de crecimiento de acuerdo a las técnicas de Kvet *et al.* (6). Los parámetros de distribución de biomasa evaluados fueron: relación de área foliar (RAF), peso foliar específico (PFE) y relación raíz/vástago (R/V). A los datos obtenidos se les analizó mediante análisis de variancia.

También se hicieron determi-

naciones de fotosíntesis neta y conductancia estomática a las 19 y 24 semanas. Estos datos fueron obtenidos mediante un medidor de fotosíntesis marca LiCor modelo 6200 unido a un analizador de dióxido de carbono, marca LiCor, modelo LI-6250, a partir de las 9:30 de la mañana. Asimismo se realizaron mediciones de tasa fotosintética, utilizando un medidor portátil de fotosíntesis ADC en la siguiente forma: Se seleccionaron hojas de la misma edad y dichas hojas individuales se ubicaban en la cámara de la hoja del instrumento. Por encima de la cámara se colocaban de 1 a 6 trozos de malla de densidad neutra para reducir la irradiación a medida que se aumentaba el número de mallas. Finalmente, se colocó un trozo de tela negra. Al comenzar se midió la fotosíntesis sin malla, es decir, con luz solar total. Estas mediciones fueron realizadas con las plantas crecidas bajo luz solar total. Al realizar los cambios de mallas, se permitía un tiempo (5 a 10 min) de ajuste o adaptación de la planta al nuevo tratamiento lumínico.

Para determinar las concentraciones de los carbohidratos solubles, almidón y carbohidratos totales no

estructurales (CTN) se utilizaron muestras de hojas de plantas crecidas en el sol y en la sombra. Los CTN fueron determinados mediante el método de Tissue and Wright (11). El material vegetal fue secado en un horno, molido para obtener un polvo fino y extraído tres veces con 2 mL de metanol:cloroformo:agua (12:5:3 v/v) para separar los azúcares solubles de la porción que contiene el almidón. La porción sólida fue tratada con 5 mL de ácido perclórico (35% v/v) por 1 hora para hidrolizar el almidón. Los azúcares solubles y la concentración de almidón fueron determinadas colorimétricamente usando el método del ácido fenol-sulfúrico. Los CTN fueron calculados como la suma de azúcares solubles y almidones. En el segundo muestreo se analizaron además de carbohidratos solubles, los glucósidos fenólicos. A fin de identificar cada azúcar, se prepararon los derivados trimetilsilil y se analizaron mediante cromatografía capilar y espectrofotometría de masa. Se utilizaron estándares externos de carbohidratos conocidos para determinar su concentración en la muestra de la planta.

Resultados y discusión

Se observaron diferencias significativas en el área foliar a los 20 y 50 días después de la germinación, siendo mayor el área en las plantas crecidas en la sombra (cuadro 1). Esta respuesta ha sido reportada para otras especies (3, 4, 5). Asimismo, la biomasa de las raíces fue mayor en el sol que en la sombra a los 100 días, indicando

que para ese momento las reservas de las plantas crecidas en el sol se ubicaban básicamente en las raíces (cuadro 1).

El crecimiento de *B. lupulina* no fue mayor en la luz solar total a pesar de tener 70% más luz disponible en esa condición. No se encontraron diferencias significativas en la biomasa

Cuadro 1. Biomasa de raíces, tallos, hojas y total y área foliar de plantas de *Barleria lupulina* a los 20, 50 y 100 días después de la emergencia de las plántulas.

| Tratamiento | Biomasa (g) | | | | Área foliar (dm ²) |
|-------------|-------------------|--------|-------|-------|--------------------------------|
| | Raíces | Tallos | Hojas | Total | |
| 20 días | | | | | |
| Sol | 0,04 | 0,04 | 0,17 | 0,25 | 0,17 ^b |
| Sombra | 0,02 | 0,03 | 0,21 | 0,26 | 0,37 ^a |
| 50 días | | | | | |
| Sol | 0,21 | 0,31 | 0,94 | 1,46 | 1,21 ^b |
| Sombra | 0,14 | 0,24 | 0,74 | 1,12 | 1,63 ^a |
| 100 días | | | | | |
| Sol | 8,98 ^a | 10,48 | 14,37 | 33,82 | 13,2 |
| Sombra | 5,43 ^b | 11,90 | 11,78 | 27,98 | 16,2 |

a, b: Medias con letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).

de hojas, tallos y biomasa total de las plantas de *B. lupulina* crecidas en el sol en relación con las de la sombra parcial, a los 20, 50 y 100 días. Sin embargo, la biomasa de las raíces fue significativamente mayor en las plantas crecidas al sol a los 100 días de crecimiento. El hecho de que en general la biomasa de *B. lupulina* no fue significativamente mayor en el sol que en la sombra parcial (cuadro 1), parece indicar que su crecimiento es bastante plástico en respuesta a la luz.

La RAF fue siempre significativamente mayor en las plantas crecidas en la sombra que en el sol (cuadro 2). Por el contrario, el PFE fue mayor bajo luz solar total en las tres cosechas efectuadas y la respuesta de la relación R/V fue similar a la encontrada por Fetcher *et al.* (5) para *Dipterix panamensis* y *H. appendiculatus*, es decir, que fue

mayor en la luz solar total (cuadro 2). En consecuencia, puede establecerse que hubo efecto del tratamiento lumínico en la distribución de biomasa.

La conductancia estomática disminuyó en la luz solar total, tanto a las 19 como a las 24 semanas, lo que posiblemente indica un cierre parcial de los estomas ocasionado por la mayor irradiación (figuras 1 y 2). Este resultado podría explicar la semejanza en los valores de fotosíntesis obtenidos en las plantas crecidas bajo los dos tratamientos lumínicos (figuras 1 y 2). El comportamiento de *Heliocarpus appendiculatus* es similar al de *B. lupulina* (5). El hecho de que la conductancia estomática fuese más baja en el sol que en la sombra, sugiere que los estomas pueden haber cerrado parcialmente como resultado del aumento en la demanda evaporativa en luz solar total (8) o esa mayor

Cuadro 2. Relación de área foliar (RAF), relación raíz/vástago (R/V) y peso foliar específico (PFE) de plantas de *Barleria lupulina* a los 20, 50 y 100 días después de la emergencia de las plántulas.

| Tratamiento | RAF | R/V | PFE |
|-------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| 20 días | | | |
| Sol | 0,70 ^b | 0,119 | 0,99 ^a |
| Sombra | 1,42 ^a | 0,088 | 0,56 ^b |
| 50 días | | | |
| Sol | 0,83 ^b | 0,165 | 0,78 ^a |
| Sombra | 1,47 ^a | 0,139 | 0,46 ^b |
| 100 días | | | |
| Sol | 0,40 ^b | 0,364 ^a | 1,09 ^a |
| Sombra | 0,62 ^a | 0,239 ^b | 0,64 ^b |

a, b: Medias con letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).

conductancia estomática en la sombra podría también ser indicativo de una mayor densidad estomática bajo esa condición. Por el contrario, el contenido de clorofila total disminuyó con la sombra parcial (figura 3).

En un primer muestreo realizado no se encontraron diferencias significativas entre las plantas crecidas en el sol y en la sombra en cuanto al contenido de ácido shikímico, fructosa, galactosa, glucosa y dos compuestos a y b sin identificar (cuadro 3). Sin embargo, el contenido de mioinositol y sacarosa fueron mayores en el sol que en la sombra (figura 4). No obstante, el contenido de carbohidratos totales de las plantas crecidas en el sol ($134,29 \mu\text{mol/g}$ peso seco) fue significativamente menor que en la sombra ($169,99 \mu\text{mol/g}$ peso seco).

Al realizar un segundo muestreo para obtener el porcentaje de

carbohidratos solubles, almidón y carbohidratos totales no estructurales (CTN), se encontró que éstos compuestos aumentaron en el sol (figura 5), correspondiéndose con el mayor PFE y contenido de clorofila en las plantas crecidas bajo esa condición de irradiación solar total (cuadro 2, figura 3). La disminución en el PFE, ocasionado por la mayor irradiación, parece involucrar cambios en la proporción de material foliar fotosintéticamente inactivo a fotosintéticamente activo. Aún cuando existe poca información en relación con este aspecto, ciertos estimados indican que una reducción en el pool de fotosintetatos, principalmente azúcares y almidón, en respuesta a la baja irradiación, podrían ser causantes de hasta un 20% de disminución en el PFE (3). La glucosa y la sacarosa, al igual que un compuesto b no identificado, constituyeron las

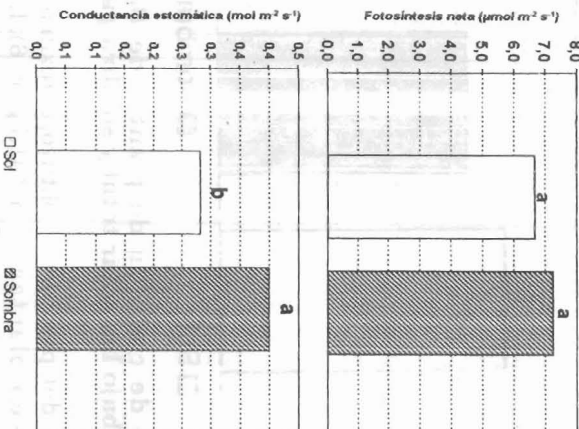


Figura 1. Fotosíntesis neta y conductancia estomática de plantas de *Barleria lupulina* creciendo en el sol y la sombra durante 19 semanas. Las columnas con letras diferentes presentan diferencias significativas al 5%.

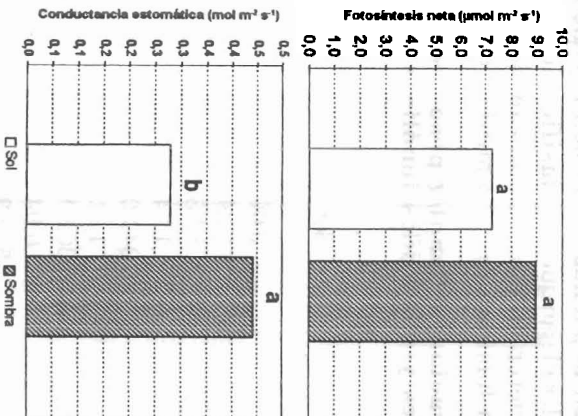


Figura 2. Fotosíntesis neta y conductancia estomática de plantas de *Barleria lupulina* creciendo en el sol y la sombra durante 24 semanas. Las columnas con letras diferentes presentan diferencias significativas al 5%.

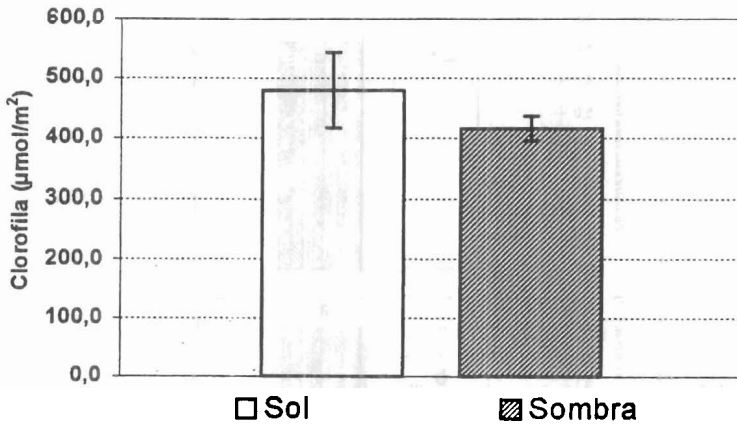


Figura 3. Contenido de clorofila de plantas de *Barleria lupulina* creciendo bajo luz solar total y sombra parcial.

principales fracciones del pool de carbohidratos, tanto en plantas crecidas en el sol como en la sombra (cuadro 3).

Las mediciones de la tasa fotosintética realizadas en las plantas crecidas en luz solar total, reflejan que cuando las plantas crecieron en esa condición, la saturación lumínica se

obtuvo, aproximadamente a $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (figura 6). La clasificación de las plantas en especies de sol y de sombra no puede hacerse sólo sobre la base de curvas de saturación lumínica ó punto de compensación lumínica. Esta clasificación depende de su adaptabilidad a una intensidad lumínica determinada (2). Esta

Cuadro 3. Concentraciones ($\mu\text{mol/g}$ peso seco) de carbohidratos principales y glucósidos fenólicos en hojas de *Barleria lupulina*.

| Tratamiento | Sol | Sombra |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| Acido shikimiko | 2,00 | 2,87 |
| Fructosa | 4,24 | 6,02 |
| Galactosa | 5,73 | 9,43 |
| Acido quínico | 1,14 | 1,20 |
| Glucosa | 34,30 | 45,90 |
| Mioinositol | 1,91 ^a | 0,93 ^b |
| Sacarosa | 30,59 ^a | 19,80 ^b |
| Desconocido a | 0,94 | 1,22 |
| Desconocido b | 53,43 | 82,62 |
| Total | 134,29^b | 169,99^a |

a, b: Medias con letras distintas difieren significativamente ($P < 0,05$).

adaptabilidad es heredada; está determinada por el genotipo y resulta de la adaptación genética al ambiente lumínico prevaleciente en el hábitat nativo.

La adaptación del crecimiento a la baja luminosidad, parece estar relacionado con la eficiencia del uso de la energía lumínica disponible. Las plantas de sombra utilizan una mayor proporción de su capacidad fotosintética en la síntesis y mantenimiento de la maquinaria atrapadora de luz, que las plantas de sol (4).

Es importante destacar que esta especie presentó un crecimiento simi-

lar bajo luz solar total y sombra parcial, y a pesar de que la conductancia estomática disminuyó con la mayor irradiación, la tasa fotosintética, bajo ese regimen lumínico, permitió una mayor síntesis de glucosa, sacarosa y almidón, conllevando al aumento en el PFE.

Entre las respuestas de aclimatación de *B. lupulina* a la baja irradiación se observaron: un aumento en la RAF y una disminución en el PFE desde las fases tempranas de su crecimiento y también disminución en la relación R/V.

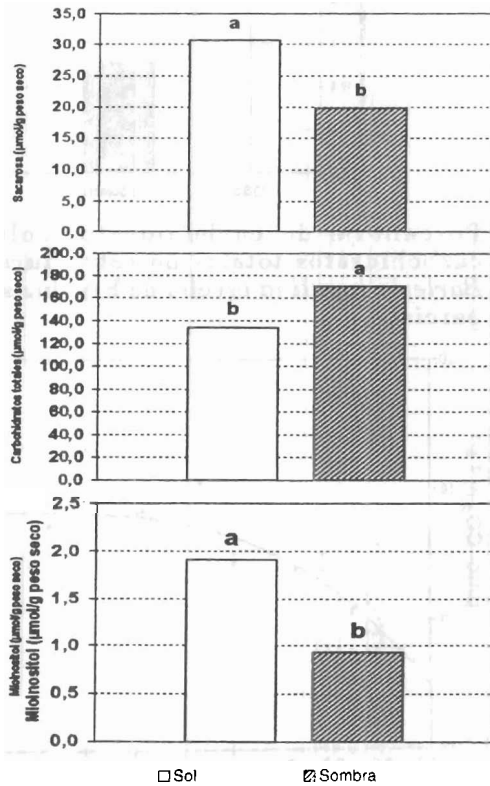


Figura 4. Concentración de sacarosa, carbohidratos totales no estructurales y mioinositol de plantas de *Barleria lupulina* creciendo bajo luz solar total y sombra parcial.

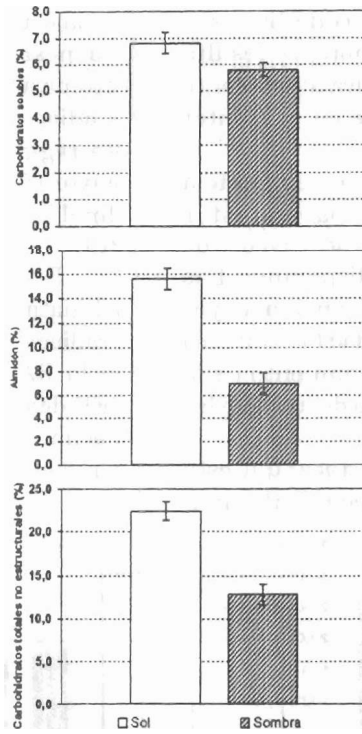


Figura 5. Porcentaje de carbohidratos solubles, almidón y carbohidratos totales no estructurales de plantas de *Barleria lupulina* creciendo bajo luz solar total y sombra parcial.

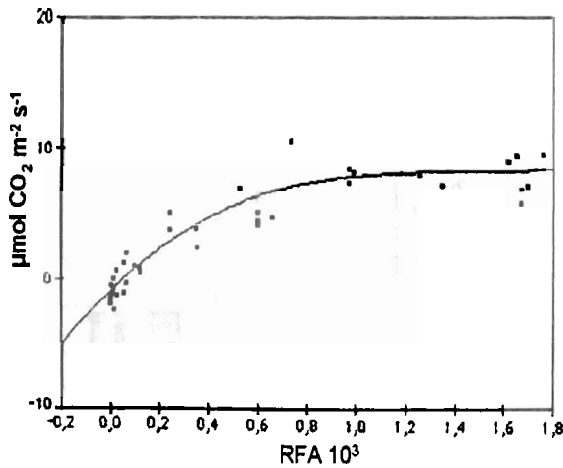


Figura 6. Tasa de fotosíntesis de *Barleria lupulina* bajo diferentes niveles de luminosidad.

Agradecimiento

Los autores expresan su gratitud al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de La Universidad del Zulia y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas

y Tecnológicas (CONICIT), por otorgar el financiamiento para realizar esta investigación. Igualmente, agradecemos al Oak Ridge National Laboratory.

Literatura citada

1. Badillo, B. M., L. Schnee y C. B. Rojas. 1985. **Clave de las plantas superiores de Venezuela**. 7ma edición. Espasande, S. R. L. Editores. Caracas, Venezuela.
2. Björkman, O. 1968. Further studies on differentiation of photosynthetic properties of sun and shade ecotypes *Solidago virgaurea*. *Physiol. Plant* 21: 84-99.
3. Björkman, O. 1981. Responses to different quantum flux densities. p. 57-107. In: O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond and H. Ziegler (Eds.). *Physiological plant ecology*. I. Responses to the physical environment. *Encycl. Plant Physiol. New Ser. Vol. 12A*. Springer-Verlag, Berlin.
4. Boardman, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 355-377.
5. Fetcher, N., B. R. Strain and S. F. Oberbauer. 1983. Effects of light regime on the growth, leaf morphology and water relations of seedlings of two species of tropical trees. *Oecologia* (Berlin) 58: 314-319.
6. Kvet, J. J., P. Ondok, J. Necas and P. G. Jarvis. 1971. Methods of growth analysis. p. 343-391. In: Z. Sestak *et al.* (Eds.) *Plant photosynthetic production: Manual of methods*. W. Junk, The Hague.
7. Páez, A., M. E. González y N. Pereira. 1994. Comportamiento de *Panicum maximum* en condiciones de sombreado y de luz solar total: Efecto de la intensidad de corte. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 11: 25-42.
8. Schulze, E. D., O. L. Lange, M. Evenari, L. Kappen and U. Buschbom. 1974. The role of air humidity and leaf temperature in controlling stomatal resistance of *Prunus armeniaca* L. under desert conditions: I. A simulation of the daily course of stomatal resistance. *Oecologia* 17: 159-170.
9. Steckmeyer, J. A., P. E. Berry and E. K. Holst. 1995. *Flora of the Venezuelan Guayana*. Pteridophytes, Spermatophytes: Acanthaceae-Araceae. Volumen 2. General Editors.
10. Sucksamram, G. 1986. Iridoid glucosides from *Barleria lupulina*. *Journal of Natural Products* 49(1): 179.
11. Tissue, D. T. and S. J. Wright. 1995. Effect of seasonal water availability on phenology and the annual shoot carbohydrate cycle of tropical forest shrubs. *Functional Ecology* 9: 518-527.
12. Urdaneta, J. A. y A. Páez. 1995. Estudio preliminar sobre la actividad biológica de *Barleria lupulina* (Acanthaceae). p. 329. En: *Resúmenes de la Convención Nacional de AsoVAC. Sección de Productos naturales*. Caracas, Venezuela.
13. Urdaneta, J. A., M. E. González y A. Páez. 1995. Características del crecimiento, distribución de biomasa y datos fenológicos de *Barleria lupulina* en dos ambientes lumínicos. p. 9-12. En: *Resúmenes del III Congreso Latinoamericano de Ecología*. Mérida.