

## Crecimiento, carbohidratos solubles y ácidos grasos de verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) sometida a tres niveles de radiación

Growth, soluble carbohydrate and fatty acid concentrations of common purslane (*Portulaca oleracea* L.) grown under three irradiance levels

A. Páez<sup>1</sup>, P.M. Páez<sup>2</sup>, M.E. González<sup>1</sup>, A. Vera<sup>3</sup>,  
D. Ringelberg<sup>4</sup> y T.J. Tschaplinski<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecofisiología. Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

<sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

<sup>3</sup>Laboratorio de Ecología, Centro de Investigaciones Biológicas, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

<sup>4</sup>Microbiologist. U.S. Army-CRREL 72 Lyme Rd. Hanover, NH 03755

<sup>5</sup>Environmental Sciences Division, Oak Ridge National Laboratory, P.O. Box 2008, Oak Ridge, Tennessee 37831-6422

### Resumen

La herbácea anual verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), una especie C<sub>4</sub> ampliamente distribuida la cual se sometió a crecimiento se hizo crecer a diferentes condiciones de radiación. Se determinó el efecto de la luz sobre el crecimiento de la planta, la distribución de carbono, y las concentraciones de carbohidratos solubles y ácidos grasos (particularmente ω3 insaturados) de las hojas. Las plántulas crecieron bajo tres regímenes de luz: luz total, sombra parcial (30% de la luz total) y sombra total (10% de la luz total). En la luz total se obtuvo un rápido crecimiento vegetativo después de los 13-15 días y la floración se presentó un mes después de la emergencia de las plántulas; ambas variables disminuyeron en el tratamiento de sombra total. A las tres semanas después de la emergencia de los individuos, el área foliar, la biomasa de las hojas, tallos y raíces fueron mayores a luz total. La relación raíz/vástago disminuyó bajo la condición de radiación más baja, y la relación área foliar, el área foliar específica y la proporción del peso foliar incrementaron tanto en la sombra total como en la parcial. A las seis semanas, las plantas tratadas con luz total tuvieron

Recibido el 28-10-2005 ● Aceptado el 25-4-2007

Autor de correspondencia e-mail: apaezsalarzar@yahoo.com; t2t@ornl.gov

una baja proporción de la biomasa de las hojas (4%), y una alta proporción en la correspondiente a las raíces (50%) en relación a los tratamientos de sombra, en los cuales los tallos y las estructuras reproductivas constituyeron la mayor fracción de la biomasa total. En la sombra total, 46% de la biomasa total se localizó en las hojas. Adicionalmente, la radiación más baja redujo la concentración de carbohidratos solubles de las hojas a 18% de la correspondiente a las plantas que crecieron bajo luz total. La sombra también mostró una tendencia a incrementar las concentraciones de la fracción de ácidos grasos polares de las hojas, incluyendo 18:3 $\omega$ 3 y el polimetil unidos a los alcoholes y al fitol. Mientras que las plantas se compensaron en el sombreado parcial al secuestrar carbono para la producción foliar, el sombreado total produjo inhibición del crecimiento y efectos adicionales sobre el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos.

**Palabras clave:** *Portulaca oleracea*, verdolaga, radiación, distribución de carbono, carbohidratos, ácidos grasos.

### Abstract

The annual herb purslane (*Portulaca oleraceae* L.), a widely-distributed C<sub>4</sub> species, was grown under different irradiances to determine the effect of light on plant growth, carbon allocation, soluble carbohydrate and fatty acid (particularly desaturated w<sub>3</sub>-fatty acid) concentrations of leaves. Seedlings were grown under three light regimes: full sun, partial shade (30% of full sun) and deep shade (10% of full sun). In full sun, rapid vegetative growth began after 13-15 d and flowering began one month after emergence, both of which were delayed by shade. At 3 wk after emergence, leaf area, leaf, stem, and root biomass were greatest in full sun. Root/shoot ratio decreased under lower irradiance, and leaf area ratio, specific leaf area, and leaf weight ratio increased in both deep and partial shade. At 6 wk, plants in full sun had a low proportion of its biomass in leaves (4%), and a high proportion in roots (50%), relative to the shade treatments, in which, stems and reproductive structures constituted a greater fraction of the total biomass. In deep shade, 46% of the total biomass was allocated to leaves. Additionally, lower irradiance reduced soluble carbohydrate concentrations of leaves to 18% of that in plants grown under full sun. Shade also tended to increase the concentrations of polar fraction fatty acids in leaves, including 18:3 $\omega$ 3, and the poly-methyl branched alcohols and phytol. Whereas plants compensate for partial shade by reallocating carbon to leaf production, severe shade resulted in growth suppression and additional effects on carbohydrate and lipid metabolism.

**Key words:** *Portulaca oleracea*, Purslane, irradiance, carbon allocation, carbohydrates, fatty acids.

## Introducción

La herbácea anual verdolaga (*Portulaca oleraceae* L.) es una planta  $C_4$  considerada por ser una maleza en alrededor de 80 países del mundo, siendo común en el trópico, particularmente en Venezuela (5). Los tallos son suculentos, lisos y carnosos (5, 12, 14). Las flores de verdolaga son amarillas, sésiles y solitarias, y el fruto es una cápsula con muchas semillas ligeramente negras. A pesar del considerable esfuerzo que ha tenido lugar previamente al desarrollar herbicidas para controlar a esta maleza (3), la verdolaga ha sido reconocida recientemente como una fuente de ácido linoleico y anti oxidantes (17, 22-24). De acuerdo con los datos disponibles, la verdolaga es la fuente más rica de ácido linoleico (LNA, 18:3 $\omega$ 3) (4 mg.g<sup>-1</sup> de peso fresco) entre los vegetales de hojas verdes (17, 24). También contiene una pequeña cantidad de ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5 $\omega$ 3) (0.01 mg.g<sup>-1</sup> de peso fresco), así como también de antioxidantes (24). Simopoulos y Salem (23) reportaron que la verdolaga contiene 8.5 mg.g<sup>-1</sup> de peso fresco de ácidos grasos, y de este total 18:3 $\omega$ 3 constituye 4.05 mg.g<sup>-1</sup> de peso fresco. Por lo tanto, se considera una rica fuente no acuática de ácido linoleico, conveniente para consumo humano. Así, la verdolaga puede ser una planta sustituta del aceite de pescado debido a su alto contenido de ácido linoleico, el precursor del orden más alto de ácidos grasos omega-3 ( $\omega$ 3).

El contenido de ácido linoleico en la verdolaga varía con la edad, el tipo de tejido, y con hojas que contienen concentraciones más altas que en los tallos (24). La presencia y concentra-

## Introduction

The annual herb purslane (*Portulaca oleraceae* L.) is a  $C_4$  plant that is considered to be a weed species in about 80 countries of the world where it is common to the tropics, particularly in Venezuela (5). The stems are succulent, smooth and fleshy (5, 12, 14). Purslane flowers are yellow, sessile and solitary, and the fruit is a capsule with many light black seeds. Even though considerable effort has previously been placed on developing herbicides to control this weed (3), purslane has more recently been recognized as a source of a-linolenic acid and anti-oxidants (17, 22-24). According to the data available, purslane is the richest source of a-linolenic acid (LNA, 18:3 $\omega$ 3) (4 mg.g<sup>-1</sup> fresh weight) among the green leafy vegetables (17, 24). It also contains a small amount of eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 $\omega$ 3) (0.01 mg.g<sup>-1</sup> fresh weight), as well as antioxidants (24). Simopoulos and Salem (23) reported that purslane contains 8.5 mg.g<sup>-1</sup> fresh weight of fatty acids, and of this total, 18:3 $\omega$ 3 constitutes 4.05 mg.g<sup>-1</sup> fresh weight. Therefore, it is considered a rich, nonaquatic source of a-linolenic acid, suitable for human consumption. Thus, purslane may be a plant substitute for fish oil due to its high content of a-linolenic acid, the precursor of higher-order omega-3 ( $\omega$ 3) fatty acids.

The content of a-linolenic acid in purslane varies with the age and tissue-type, with leaves containing higher concentrations than stems (24). The presence and concentration

ción del ácido linoleico puede variar con el cultivar, la distribución geográfica, la etapa de desarrollo y los factores ambientales. En vista de que la verdolaga está ampliamente distribuida alrededor del mundo, especialmente en los trópicos (17), se han conducido investigaciones para determinar los efectos de la radiación sobre su composición química, específicamente en su constitución de ácidos grasos y la producción de materia seca resultante. Existen pocos estudios acerca del efecto de la radiación sobre la concentración de ácidos grasos en los tejidos. Por esto, nuestro objetivo fue determinar el efecto de la luz sobre el crecimiento de la planta, la distribución de carbono, y las concentraciones de ácidos grasos en las hojas de *Portulaca oleraceae*. Un objetivo adicional fue evaluar las condiciones ambientales para el cultivo de la verdolaga para la producción de  $\omega 3$  ácidos grasos, con la posibilidad de desarrollar un futuro cultivo agrícola.

## Materiales y métodos

Para determinar el efecto de la radiación sobre el crecimiento, la distribución de la biomasa, los carbohidratos solubles y la concentración de ácidos grasos, las plántulas de verdolaga (*Portulaca oleraceae* L.) se hicieron crecer a tres regímenes de radiación: sol total (ambiental), sombra parcial (30% de la ambiental) y sombra profunda (10% de la ambiental) en un área adyacente a la Facultad de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Se emplearon ocho plantas/tratamiento, las cuales crecieron en macetas plásticas de 30 kg, y cada tratamiento se ensayó por

of  $\alpha$ -linolenic acid in purslane may vary with the cultivar, geographic distribution, developmental stage and environmental factors. Since purslane is widely distributed throughout the world, especially in the tropics (17), we have been conducting research to determine the effects of irradiance on its chemical composition, specifically on its fatty acid constitution and the resulting dry matter production. There have been few studies that address the effect of irradiance on tissue fatty acid concentration. Therefore, our objective was to determine the effect of light on plant growth, carbon allocation, and fatty acid concentrations of leaves of *Portulaca oleraceae*. An additional objective was to assess the environmental conditions for the cultivation of purslane for the production of  $\omega 3$  fatty acids, with the possibility of developing a future agricultural crop.

## Materials and methods

To determine the effect of irradiance on growth, biomass distribution, soluble carbohydrate and fatty acid concentration, purslane (*Portulaca oleraceae* L.), seedlings were grown under three irradiance regimes: full sun (ambient), partial shade (30% ambient) and deep shade (10% ambient) in an area adjacent to Facultad de Ciencias, Zulia University, Maracaibo, Venezuela. Eight replicate plants per treatment were grown in 30 kg plastic pots, with each treatment tested in duplicate. Plants were irrigated each morning with tap water. Eight plants from

duplicado. Las plantas se regaron con agua corriente cada mañana. Ocho plantas de cada régimen de luz se cosecharon a las 3 y 6 semanas después de la emergencia de las plántulas. Las raíces se lavaron y se colocaron en bolsas de papel. Las hojas se separaron de los tallos. El área foliar se midió con un equipo de área foliar Ll-3100 (LiCor, Lincoln, NE), y las plantas fueron secadas en una estufa Memmert a 60°C durante 3-4 días hasta obtener su biomasa.

El análisis de crecimiento se llevó a cabo en todos los tratamientos (15). Los parámetros de distribución de la biomasa incluyeron la relación raíz/vástago (R/S), relación área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) y relación de peso foliar (RPF). La radiación fotosintéticamente activa (RFA), la temperatura del aire y la humedad relativa fueron obtenidas con sensores del sistema portátil de fotosíntesis LiCor Li-6200 (LiCor Inc., Lincoln, NE), el cual incluye el analizador de dióxido de carbono LiCor Li-6250. Las variables ambientales como la precipitación, la temperatura, y la humedad relativa fueron obtenidas durante el transcurso del experimento a partir de la estación climatológica de la Universidad del Zulia. El promedio de temperatura mínima y máxima fue de  $24.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$  and  $32.8 \pm 0.1^\circ\text{C}$ , respectivamente. La media de la humedad relativa mínima y máxima fue  $49.7 \pm 1.2\%$  y  $93.8 \pm 0.7\%$ , respectivamente.

Las muestras foliares (20-25 mg), de cada tratamiento, se pesaron, se congelaron y se sacaron durante 48 horas y se analizaron los carbohidratos solubles. Cada una de estas muestras fueron ex-

each light regime were harvested at 3 weeks and 6 weeks after seedling emergence. The roots were washed and placed in paper bags. The leaves were separated from the stems. Leaf area was measured with a Ll-3100 leaf area meter (LiCor, Lincoln, NE), and plants were dried in a Memmert oven at 60°C for 3-4 days to obtain dry biomass.

Growth analysis was conducted on all treatments (15). The biomass distribution parameters included root/shoot (R/S), leaf area ratio (LAR), specific leaf area (SLA), and leaf weight ratio (LWR). Photosynthetically active radiation (PAR), air temperature and relative humidity were obtained with sensors on the LiCor Li-6200 portable photosynthesis system (LiCor Inc., Lincoln, NE), which includes the LiCor Li-6250 carbon dioxide analyzer. Environmental variables, such as precipitation, temperature, and relative humidity were obtained over the course of the experiment from the climatological experimental station at Zulia University. Average minimum and maximum temperature was  $24.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$  and  $32.8 \pm 0.1^\circ\text{C}$ , respectively. Average minimum and maximum relative humidity was  $49.7 \pm 1.2\%$  and  $93.8 \pm 0.7\%$ , respectively.

Leaf samples (20-25 mg) from each treatment were weighed, freeze dried for 48 hours, and analyzed for soluble carbohydrates. Each of these samples was extracted in hot water at 60°C for 30 minutes and then the extracts were freeze dried. Extracts (1 mL of each sample) were treated with 1 mL of Tri-Sil 'Z' (Pierce Chemical Co., Rockford, IL), heated

traídas en agua caliente a 60°C por 30 min y luego los extractos fueron liofilizados. Los extractos (1 L de cada muestra) fueron tratados con 1 mL de Tri-Sil 'Z' (Pierce Chemical Co., Rockford, IL), calentadas por 30 min a 70°C, se dejaron reposar toda la noche y 1 L de la muestra derivatizada fue analizada usando cromatografía de gas con columna capilar (31). Los derivados trimetilsililados de los carbohidratos fueron analizados usando un cromatógrafo de gas acoplado a masa, con una columna de fase estacionaria HP 5972 (GC-MS). La identificación de cada carbohidrato se confirmó mediante GC-MS. Las condiciones de operación del GC-MS se han descrito previamente (9). Los patrones externos de los carbohidratos conocidos fueron analizados para determinar la concentración encontrada en las muestras foliares de verdolaga. Adicionalmente se analizó la constitución de los ácidos grasos en muestras foliares (20-25 mg) para determinar el efecto de radiación en perfiles de ácidos grasos. Los ácidos grasos de glicolípido y lípidos polares se unieron, se esterificaron para obtener ésteres metílicos y se analizaron mediante cromatografía de gas como lo describen White y Ringelberg (33).

Se usó un arreglo factorial en un diseño al azar con ocho réplicas de plantas. En cada régimen de radiación, las plantas se seleccionaron a través de un muestreo al azar y cada tratamiento fue duplicado. Los datos fueron procesados de acuerdo al análisis de varianza seguido por la prueba de separación de medias de Tuckey con medias los tratamientos consideradas estadísticamente diferentes en  $P \leq 0.05$ .

for 30 min at 70°C, left overnight, and 1 mL of derivitized sample was analyzed using capillary gas chromatography (31). Trimethylsilyl derivatives of carbohydrates were analyzed using an HP 5972 gas chromatograph-mass (GC-MS) stationary phase column spectrometer (Hewlett-Packard Co., Avondale, PA). The identity of each carbohydrate was confirmed by GC-MS. Operating conditions of the GC-MS were as described elsewhere (9). External standards of known carbohydrates were analyzed to determine the concentrations found in the treated purslane leaf samples. Additionally, leaf samples (20-25 mg) were analyzed for the constitution of their fatty acids to determine the effect of irradiance on fatty acid profiles. Fatty acids of glyco- and polar lipid classes were pooled, esterified to produce methyl esters and analyzed by gas chromatography, as described by White and Ringelberg (33).

A factorial arrangement in a randomized design with eight replicate plants was used. In each irradiance regime, plants were selected in a randomized fashion and each treatment was duplicated. The data were processed according to analysis of variance followed by Tuckey test for mean separation, with treatment means considered statistically different at  $P \leq 0.05$ .

## Results and discussion

In full sun, seedling emergence was completed in 24 to 30 h in moist, warm soil. Early growth was slow, but rapid rate of vegetative growth began

## Resultados y discusión

A exposición solar total, la emergencia de las plántulas se completó entre las 24 y 30 h en condiciones de humedad y suelo cálido. El crecimiento inicial fue lento, pero la tasa rápida de crecimiento vegetativo comenzó después de los 13 a 15 días. En condiciones de luz solar total el crecimiento vegetativo se caracterizó porque las plantas eran densamente ramificadas. El crecimiento vegetativo y las ramas se retrasaron en condiciones de sombra. La floración comenzó un mes después de la emergencia la cual también se retrasó en condiciones de sombreado. A exposición solar total, las plantas se presentan postradas, pero a medida que se incrementa la sombra, éstas tienden a crecer más erecta, produciendo menos hojas, flores y cápsulas.

Tres semanas después de la emergencia, el área foliar y la biomasa seca de las hojas, de los tallos de las raíces y flores fueron mayores a exposición solar total y menores en sombra total (cuadro 1). La proporción raíz/vástago disminuyó a la más baja exposición solar y las RAF, AFE y RPF aumentaron tanto en la sombra parcial como en la total (cuadro 2). A las 6 semanas después de la emergencia, las plantas en luz total tuvieron una baja proporción de su biomasa en las hojas (4%), y una alta proporción en las raíces (50%) en relación con los otros tratamientos (cuadro 3). En contraste, los tallos y las estructuras reproductivas constituyeron la mayor fracción de la biomasa total acumulada en las plantas que crecieron en la sombra parcial (cuadro 3). En sombra

after 13–15 d. Under high light, vegetative growth was characterized by plants being heavily branched. Vegetative growth and branching were delayed by shade. Flowering began one month after emergence, which was also delayed by shade. In full sun, the plant is prostrate, but as shade increases, it tends to grow more upright (erect), producing fewer leaves, flowers and capsules.

Three weeks after emergence, leaf area, leaf, stem, root and flower dry biomass were greatest under full sun and least under deep shade (table 1). Root/shoot ratio decreased under lower irradiance, and LAR, SLA and LWR increased in both deep and partial shade (table 2). At 6 weeks after emergence, plants in full sun had a low proportion of its biomass in leaves (4%), and a high proportion in roots (50%), relative to the other treatments (table 3). In contrast, stems and reproductive structures constituted a greater fraction of the total biomass accumulated in plants grown in partial shade (table 3). In deep shade, 46% of the total biomass was allocated to leaves. The leaves grown in full sun were smaller and thicker, resulting in lower SLA. However, R/S was greatest and LAR was least under full sun (table 4).

Partial shade reduced the total soluble carbohydrate concentration of purslane leaves to 18% compared to leaves grown in full sun. There were four major soluble carbohydrates found in the leaves, all monosaccharides. The most abundant was glucose, followed by fructose, myoinositol, and galactose, respectively (table 5). Concentrations



**Cuadro 1. Área foliar y producción de biomasa seca de plantas de verdolaga que crecieron durante 3 semanas en tres radiaciones.**

**Table 1. Leaf area and dry biomass production of purslane plants grown for 3 wk under three irradiances.**

Radiación	Área foliar dm <sup>2</sup>	Biomasa seca foliar g	Biomasa seca del tallo g	Biomasa seca de las reproducturas g	Biomasa seca de los brotes g	Biomasa seca de la raíz g	Biomasa seca total G
Sombra total	0,05 <sup>a</sup>	0,15 <sup>a</sup>	0,22 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>	0,37 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>
Sombra parcial	0,27 <sup>b</sup>	2,41 <sup>b</sup>	2,44 <sup>b</sup>	0,96 <sup>b</sup>	5,82 <sup>b</sup>	1,84 <sup>b</sup>	7,65 <sup>b</sup>
Luz total	0,53 <sup>c</sup>	2,84 <sup>b</sup>	3,59 <sup>c</sup>	1,78 <sup>c</sup>	8,21 <sup>c</sup>	4,49 <sup>c</sup>	12,69 <sup>c</sup>

Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativas en el nivel 0,05.



**Cuadro 2. Distribución de la biomasa de plantas de verdolaga que crecieron a partir de semillas en tres radiaciones durante 3 semanas.**

**Table 2. Biomass distribution of purslane plants grown from seeds under three irradiances during 3 wk.**

Radiación	Raíces/vástago R/V	RAF	AFE	RPF
Sombra total	0.12 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.32 <sup>b</sup>	0.37 <sup>b</sup>
Sombra parcial	0.32 <sup>b</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>	0.31 <sup>a</sup>
Luz total	0.55 <sup>c</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>

Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativas en el nivel 0,05.

total el 46% de la biomasa total se localizó en las hojas. Las hojas que se desarrollaron en luz total fueron más pequeñas y gruesa lo que resultó en la más baja AFE. Sin embargo la relación R/V fue mayor y la RAF fue menor a exposición solar total respectivamente (cuadro 4).

La sombra parcial redujo la concentración total de carbohidratos solubles de las hojas de verdolaga al 18%, comparada con las hojas a exposición solar total. Se encontraron cuatro carbohidratos solubles monosacáridos principales en las hojas. El más abundante fue la glucosa seguido por la fructosa, el mioinositol, y la galactosa, respectivamente (cuadro 5). Las concentraciones de los carbohidratos solubles no fueron diferentes entre tratamientos de sombra, indicando que las hojas se mantienen en un mínimo nivel de la línea de fondo. Dado que las plantas sombreadas a un 10% de luz total fueron más pequeñas que aquellas que crecieron a un 30% de luz total, las disminuciones del crecimiento resultaron sin mayores reducciones en la concentración de carbohidratos.

of soluble carbohydrates were not different between shade treatments, indicating that leaves maintain a minimum, baseline level. Given that plants shaded to 10% of full sun were smaller than those grown at 30% of full sun, growth reductions resulted without further depletion of carbohydrate concentrations.

Lower irradiance tended to increase concentrations of polar fraction fatty acids in leaves, including 18:3 $\omega$ 3, and 20:3 $\omega$ 3 (but considerable variability was evident), 18:2 $\omega$ 6, the polymethyl-branched alcohols and phytol, the tail of the chlorophyll molecule (table 6). The relative proportion of fatty acids changed under low irradiance as indicated by the mole fraction data (table 7). The mole fraction of 18:2 $\omega$ 6 increased from 5.1% (full sun) to 9.5% (deep shade), with small increases in 16:1 $\omega$ 13t and 16:1 $\omega$ 7c. In contrast, low irradiance reduced the mole fraction of several saturated fatty acids, including 14:0, 23:0, 24:0 and 25:0 (table 7).

An increase in SLA in response to low irradiance has been reported

**Cuadro 3. Área foliar y producción de biomasa seca de plantas de verdolaga que crecieron por seis semanas en tres radiaciones.**

**Table 3. Leaf area and dry biomass production of purslane plants grown for 6 wk under three irradiances.**

Radiación	Área foliar dm <sup>2</sup>	Biomasa seca foliar g	Biomasa seca del tallo g	Biomasa seca de las reproturaturas g	Biomasa seca de los brotes g	Biomasa seca de la raíz g	Total de biomasa a seca g
Sombra total	0.05 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.04 <sup>a</sup>	0.42 <sup>a</sup>
Sombra parcial	0.27 <sup>b</sup>	2.41 <sup>b</sup>	2.44 <sup>b</sup>	0.96 <sup>b</sup>	5.82 <sup>b</sup>	1.84 <sup>b</sup>	7.65 <sup>b</sup>
Luz total	0.53 <sup>c</sup>	2.84 <sup>b</sup>	3.59 <sup>c</sup>	1.78 <sup>c</sup>	8.21 <sup>c</sup>	4.49 <sup>c</sup>	12.69 <sup>c</sup>

Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativas en el nivel 0,05.

**Cuadro 4. Distribución de la biomasa de plantas de verdolaga que crecieron en tres radiaciones durante seis semanas.**

**Table 4. Biomass distribution of purslane plants grown under three irradiances for 6 wk.**

Radiación	Raíz/broteR/B	RAF	AFE	RPF	Hoja/tallo
Sombra total	0,15 <sup>a</sup>	2,04 <sup>c</sup>	4,44 <sup>b</sup>	0,46 <sup>c</sup>	1,39 <sup>c</sup>
Sombra parcial	0,11 <sup>a</sup>	0,29 <sup>b</sup>	1,34 <sup>a</sup>	0,21 <sup>b</sup>	0,46 <sup>b</sup>
Luz total	0,98 <sup>b</sup>	0,07 <sup>a</sup>	1,77 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,12 <sup>a</sup>

Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativas en el nivel 0,05.

La radiación más baja tendió a incrementar la concentración de la fracción de los ácidos grasos polares en las hojas, incluyendo 18:3ω3, y 20:3ω3 (pero fue evidente una variabilidad considerable), 18:2ω6, los alcoholes polimetílicos ramificados y los fitoles, las más altas de las moléculas de clorofila (cuadro 6). La proporción relativa de ácidos grasos cambió bajo condiciones de baja radiación como lo indicaron los datos de la fracción de molar (cuadro 7). La fracción molar de 18:2ω6 aumentó de 5,1% (luz total) a 9,5% (sombra profunda), con pequeños aumentos en 16:1ω13t y 16:1ω7c. En contraste, la baja radiación redujo la fracción molar de varios ácidos saturados incluyendo 14:0, 23:0, 24:0 y 25:0 (cuadro 7).

Se ha reportado un incremento en el AFE en respuesta a la baja radiación en varias especies (2). Patterson *et al.* (20) reportó un triple aumento en la RAF malvavisco de la india (*Abutilon theophrasti* L.) y algodón (*Gossypium hirsutum* L.). La relación R/V disminuyó a la más baja radiación, lo que refleja el aumento en la distribución de carbono disponible para el crecimiento foliar a expensa del crecimiento de la raíz.

in a number of plant species (2). Patterson *et al.* (20) reported a three-fold increase in LAR in velvetleaf (*Abutilon theophrasti* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.). The decreased R/S ratio under lower irradiance reflects the increased allocation of available carbon to leaf growth at the expense of root growth. A greater allocation of carbon to leaf growth in response to shading was observed in the shade-tolerant *Filipendula ulnaria* L., coupled with a decrease in carbon allocation to root growth (34). R/S ratios of *Heliocarpus appendiculatus* Turcz. and *Dipteryx panamensis* (Pitt.) Record & Mell seedlings were lowest in full shade and highest in full sun (8). The increase in LAR with decreasing growth irradiance is considered a positive whole-plant adaptation and has been observed in the facultative shade species *Impatiens parviflora* (6), and the obligate sun species *Helianthus annuus* (11).

The increases in SLA and LWR are two adjustments that maximize the photosynthetically-active area, with the former adjustment being nearly universal among both sun and

**Cuadro 5. Concentraciones de carbohidratos solubles ( $\mu\text{mol/g dw}$ ) de hojas de verdolaga creciendo bajo varios niveles de radiación.**

**Table 5. Soluble carbohydrate concentrations ( $\mu\text{mol/g dw}$ ) of leaves of purslane grown under various levels of irradiance.**

Carbohidratos solubles	100% Radiación Sol total	30% Radiación Sombra	10% de radiación Sombra
Fructosa	63,3 + 29,3 <sup>a</sup>	9,4 + 2,0 <sup>b</sup>	8,1 + 0,8 <sup>b</sup>
Galactosa	11,7 + 3,7 <sup>a</sup>	4,6 + 1,3 <sup>b</sup>	4,2 + 0,8 <sup>b</sup>
Glucosa	93,3 + 32,7 <sup>a</sup>	18,3 + 5,2 <sup>b</sup>	24,2 + 3,8 <sup>ab</sup>
Myoinositol	18,9 + 7,4 <sup>a</sup>	2,0 + 0,5 <sup>b</sup>	1,8 + 0,1 <sup>b</sup>
Mayor Total	187,2 + 69,9 <sup>a</sup>	34,3 + 8,8 <sup>b</sup>	38,2 + 5,3 <sup>ab</sup>

Se muestran el error y las medias estándar. Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

Una mayor distribución del carbono para el crecimiento foliar en respuesta al sombreado se observó en *Filipendula ulnaria* L., tolerante a la sombra, a la par con la disminución en la distribución del carbono para el crecimiento de la raíz (34). Las relaciones R/V de las plántulas de *Heliocarpus appendiculatus* Turcz. y de *Dipteryx panamensis* (Pitt.) Record & Mell fueron más bajas en sombra total y más altas a exposición solar total (8). El aumento en la RAF con la disminución por la radiación del crecimiento, es considerado una adaptación positiva de la planta completa y ha sido observada en la especie facultativa a la sombra *Impatiens parviflora* (6), y la especie estricta a la radiación solar *Helianthus annuus* (11).

Los aumentos en AFE y RPF son dos ajustes que maximizan el área fotosintéticamente activa, con el ajuste anterior siendo casi universal entre ambas especies de sol y sombra (2).

shade species (2). It is interesting to note that both shade treatments increased LWR in purslane, but SLA was only increased under deep shade. Partial shade increased SLA of *Barleria lupulina*, coupled with a doubling of LAR and a decrease in R/S ratio (19). These results were in agreement with those from studies on *Heliocarpus appendiculatus* and *Dipteryx panamensis* (8), cogongrass (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv (21) and guineagrass (18). In all of these studies, the highest R/S ratios were obtained under full sun and the lowest in the shade.

The chemical analysis of leaves collected from each treatment demonstrated the presence of  $\omega 3$  fatty acids. Previous studies of similar findings (17, 22-25) indicate the presence of  $\omega 3$  fatty acids and antioxidants in purslane leaves. Decreases in saturated fatty acids under low irradiance may have

**Cuadro 6. Concentraciones (nmol/mg dw) de ácidos grasos polares y glico lípidos de hojas de verdolaga que crecieron en varios niveles de radiación.**

**Table 6. Fatty acid concentrations (nmol/mg dw) of polar and glycolipids of leaves of purslane grown under various levels of irradiance.**

Ácidos grasos NmolFA/mgdw	100% Radiación Sol total	Error estándar	30% Radiación Sombra parcial	Error estándar	10% Radiación Sombra profunda	Error estándar
14:0	1,79	±0,13	1,40	±0,02	1,34	±0,13
16:1ω9c	1,32 <sup>b</sup>	±0,12	2,13 <sup>a</sup>	±0,11	2,31 <sup>a</sup>	±0,21
16:1ω7c	0,81 <sup>b</sup>	±0,07	1,30 <sup>b</sup>	±0,26	2,29 <sup>a</sup>	±0,31
16:1ω13t	11,07 <sup>b</sup>	±1,12	27,88 <sup>a</sup>	±0,18	35,91 <sup>a</sup>	±5,02
16:0	97,72	±20,01	156,40	±16,39	153,06	±29,07
17:0	0,47	±0,05	0,73	±0,07	0,81	±0,15
18:2ω6	26,32 <sup>b</sup>	±4,13	31,39 <sup>b</sup>	±6,09	89,74 <sup>a</sup>	±17,82
18:3ω3	356,65	±70,56	619,19	±64,64	599,93	±122,20
18:1ω9c	15,80	±3,30	24,50	±1,28	24,28	±7,84
18:1ω7c	3,55	±1,21	4,95	±1,57	3,61	±0,98
18:0	12,10	±2,59	19,92	±1,40	18,49	±3,59
20:3ω3	0,48	±1,14	0,71	±0,03	0,30	±0,30
20:1ω9 <sup>c</sup>	1,61 <sup>b</sup>	±0,47	2,83 <sup>ab</sup>	±0,48	4,15 <sup>a</sup>	±0,11

Designaciones A a través de E son para poli metilos no identificados de alcoholes ramificados, con su "Total C" total designado. The mean and standard error of the mean are shown. Se muestran el error y las medias estándar. Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativamente diferentes.

**Cuadro 6. Concentraciones (nmol/mg dw) de ácidos grasos polares y glicolípidos de hojas de verdolaga que crecieron en varios niveles de radiación (Continuación).**

**Table 6. Fatty acid concentrations (nmol/mg dw) of polar and glycolipids of leaves of purslane grown under various levels of irradiance (Continuation).**

Acidos grasos NmolFA/mgdw	100% Radiación Sol total	Error estándar	30% Radiación Sombra parcial	Error estándar	10% Radiación Sombra profunda	Error estándar
20:0	0,68 <sup>b</sup>	±0,05	0,91 <sup>b</sup>	±0,02	1,44 <sup>a</sup>	±0,26
22:0	0,65	±0,13	0,73	±0,17	0,64	±0,64
23:0	0,47 <sup>a</sup>	±0,05	0,18 <sup>ab</sup>	±0,18	0,00 <sup>b</sup>	±0,00
24:0	2,85	±0,49	3,98	±0,45	4,11	±0,83
25:0	0,81	±0,09	1,11	±0,15	1,02	±0,00
26:0	1,16	±0,09	1,88	±0,28	1,35	±0,24
Total FATTY AC	535,29	±102,95	902,12	±92,99	944,75	±189,47
A	2,86 <sup>c</sup>	±0,20	4,76 <sup>b</sup>	±0,26	5,69 <sup>a</sup>	±0,10
B	0,82 <sup>c</sup>	±0,01	1,14 <sup>b</sup>	±0,02	1,99 <sup>a</sup>	±0,08
C	0,82 <sup>b</sup>	±0,09	1,30 <sup>a</sup>	±0,02	1,47 <sup>a</sup>	±0,01
D	0,86 <sup>b</sup>	±0,05	1,20 <sup>b</sup>	±0,12	5,29 <sup>a</sup>	±1,40
E	1,76 <sup>c</sup>	±0,11	3,21 <sup>b</sup>	±0,51	4,85 <sup>a</sup>	±0,19
Total C	7,11 <sup>c</sup>	±0,31	11,58 <sup>b</sup>	±0,95	19,30 <sup>a</sup>	±1,03
Phytol	38,62 <sup>b</sup>	±3,04	99,92 <sup>a</sup>	±1,23	107,65 <sup>a</sup>	±12,19
W3 FA	357,12	±70,69	619,90	±64,68	600,21	±122,48
Total Compds	580,87	102,22	1013,62	±95,17	1071,71	±200,63

Designaciones A a través de E son para poli metilos no identificados de alcoholes ramificados, con su "Total C" total designado. The mean and standard error of the mean are shown. Se muestran el error y las medias estándar. Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativamente diferentes.

**Cuadro 7. Fracción de molar de ácidos grasos glico y polares por el 100% de hojas de verdolaga que crecieron en varios niveles de radiación.**

**Table 7. Mole fraction of glyco and polar fatty acids x 100% of leaves of purslane grown under various levels of irradiance.**

Acidos grasos nmolFA/mgdw	100% Radiación	Error estándar	30% Radiación	Error estándar	10% Radiación	Error estándar
14:0	0,35 <sup>a</sup>	0,05	0,16 <sup>b</sup>	0,01	0,14 <sup>b</sup>	0,01
16:1ω9c	0,26	0,03	0,24	0,01	0,25	0,03
16:1ω7c	0,16 <sup>b</sup>	0,02	0,14 <sup>b</sup>	0,01	0,25 <sup>a</sup>	0,02
16:1ω13t	2,16 <sup>b</sup>	0,24	3,13 <sup>ab</sup>	0,34	3,85 <sup>a</sup>	0,24
16:0	18,13	0,54	17,33	0,03	16,24	0,18
17:0	0,09	0,01	0,08	0,00	0,09	0,00
18:2ω6	5,05 <sup>b</sup>	0,53	3,45 <sup>b</sup>	0,32	9,50 <sup>a</sup>	0,02
18:3ω3	66,56 <sup>ab</sup>	1,08	68,63 <sup>a</sup>	0,09	63,46 <sup>b</sup>	0,21
18:1ω9c	2,72	0,16	2,73	0,14	2,50	0,33
18:1ω7c	0,62	0,12	0,54	0,12	0,38	0,03
18:0	2,24	0,06	2,22	0,07	1,96	0,01
20:3ω3	0,09	0,01	0,08	0,00	0,03	0,03
10:1ω9 <sup>c</sup>	0,32	0,08	0,31	0,02	0,46	0,10
20:0	0,14	0,02	0,10	0,01	0,15	0,00
22:0	0,12	0,01	0,08	0,01	0,06	0,06
23:0	0,09 <sup>a</sup>	0,01	0,02 <sup>b</sup>	0,02	0,00 <sup>b</sup>	0,00
24:0	0,54 <sup>a</sup>	0,03	0,44 <sup>b</sup>	0,00	0,44 <sup>b</sup>	0,00
25:0	0,16	0,02	0,12	0,00	0,11	0,02
26:0	0,22 <sup>a</sup>	0,02	0,21 <sup>a</sup>	0,01	0,14 <sup>b</sup>	0,00

Se muestran el error y las medias estándar. Medias de tratamientos con las mismas letras no son significativamente diferentes (P>0,05).

Treatment means with the same letter are not significantly different.



Es interesante destacar, que en ambos tratamientos de sombra aumentaron el RPF en verdolaga, pero el AFE sólo aumentó bajo sombra total. La sombra parcial aumentó el AFE de *Barleria lupulina*, conjuntamente con el doble valor de la RAF y una disminución en la relación R/V (19). Estos resultados estuvieron en concordancia con los estudios sobre *Heliocharpus appeniculatus* y *Dipteryx panamensis* (8), (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv (21) y pasto guinea (18). En todos estos estudios, las relaciones más altas de R/V fueron obtenidas en exposición solar total y los más bajos en la sombra.

Los análisis químicos de las hojas de cada tratamiento mostró la presencia de  $\omega 3$  ácidos grasos. Los estudios con hallazgos similares anteriores (17, 22-25) indicaron la presencia de ácidos grasos  $\omega 3$  y antioxidantes en las hojas de verdolaga. Las disminuciones en ácidos grasos saturados a baja radiación puede tener consecuencias para la salud humana si la verdolaga es consumida como un suplemento alimenticio. Los ácidos grasos saturados de cadena larga son dañinos para la salud humana como: 14:0 (ácido mirístico), 16:0 (ácido palmítico), y 18:0 (ácido esteárico) los cuales son formadores de trombo (13, 32), induciendo la trombosis de la sangre o la formación de coágulos en la sangre. Además, el 12:0 (ácido láurico), 14:0, y 16:0 son también ácidos grasos saturados aterogénicos (32), induciendo aterosclerosis. Por ejemplo, el ácido mirístico es el más aterogénico, con casi cuatro veces el potencial para formar colesterol que el ácido palmítico (10). Los ácidos

consecuencias for human health if purslane is consumed as a dietary supplement. Long chain, saturated fatty acids are harmful to human health, with 14:0 (myristic acid), 16:0 (palmitic acid), and 18:0 (stearic acid) being thrombogenic (13, 32), inducing thrombosis or blood clot formation. Additionally, 12:0 (lauric acid), 14:0, and 16:0 are also putative atherogenic saturated fatty acids (32), inducing atherosclerosis. For example, myristic acid is the most atherogenic fatty acid, with about four times the cholesterol-raising potential of palmitic acid (10). Long chain, saturated fatty acids accelerate thrombosis, whereas polyunsaturated fatty acids do not. Additionally, diets high in omega-3 fatty acids are thought to lower serum cholesterol levels, control blood pressure and prevent coronary heart disease (1, 4, 7, 16, 26). Simopoulos considers that edible wild plants provide more alpha-linolenic acid (ALA) and higher amounts of vitamin E, vitamin C and also antioxidants than cultivated plants (27, 28, 30). A study with seven countries showed that the population of Crete had the highest amount of alpha-linolenic acid (ALA) in their cholesteryl esters and the lowest rates of cardiovascular disease (28). According to Simopoulos (28, 29), people in Crete obtained ALA from eating wild plants as purslane, walnuts and snails. The results from our study suggest that partial shade can be used to improve the nutritional quality of purslane, as well as the proportion of carbon allocated to leaf production. Purslane is a rich source of  $\omega 3$  fatty acids and lower irradiance tended to increase concentrations of

grasos saturados de cadena larga aceleran la trombosis, mientras que los ácidos grasos poliinsaturados no. Adicionalmente, las dietas altas en ácidos grasos  $\omega 3$  se piensa que disminuyen los niveles de colesterol serico, controlan la presión arterial y previenen las enfermedades coronarias (1, 4, 7, 16, 26). Simopoulos considera que las plantas silvestres comestibles proveen más ácido alpha-linoleico (ALA) y grandes cantidades de vitamina E, vitamina C y también antioxidantes que las cultivadas (27, 28, 30). Un estudio en siete países mostró que la población de Creta tuvo la cantidad más grande de ácido alpha-linoleico (ALA) en sus ésteres de colesterol y la más baja tasa de enfermedades cardio vasculares (28). De acuerdo a Simopoulos (28, 29), la población de Crete obtuvo ALA al consumir plantas silvestres como verdolaga, nueces y caracoles. Los resultados de este estudio sugieren que la sombra parcial puede ser usada para mejorar la calidad nutricional de la verdolaga, así como también la proporción de carbono distribuido para la producción foliar. La verdolaga es una rica fuente de  $\omega 3$  ácidos grasos y la radiación más baja tendió a incrementar las concentraciones de las fracciones polares de ácidos grasos en las hojas. Por esto, este estudio es considerado una contribución para obtener una fuente alternativa de ácidos grasos  $\omega 3$  para el consumo humano.

## Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al CONDES (Universidad del Zulia) y al FONACIT por fi-

polar fraction fatty acids in leaves. Therefore, this study is considered a contribution to obtain an alternative source of  $\omega 3$  fatty acids for human consumption.

## Acknowledgements

The authors wish to express their gratitude to CONDES (Universidad del Zulia) and FONACIT for supporting part of this research conducted in Venezuela. The research was also funded, in part, by the Bioenergy Feedstock Development Program, U.S. Department of Energy, at Oak Ridge National Laboratory, managed by UT-Battelle, LLC, for the U.S. Dept. of Energy under contract DE-AC05-00OR22725.

*End of english version*

---

nanciar parte de esta investigación llevada a cabo en Venezuela. La investigación también fue financiada por el programa de "Bioenergy Feedstock Development" de U.S. Departamento de Energía, en el Laboratorio Nacional Oak Ridge, gerenciado por UT-Battelle, LLC, del Departamento de Energía de U.S. bajo el contrato DE-AC05-00OR22725.

## Literatura citada

1. Berry, E.M. y J. Hisch. 1998. Does dietary linolenic acid influence blood pressure? *Am J. Clin. Nutr.* 44: 336-340.
2. Björkman, O. 1981. Responses to different quantum flux densities.

- p. 57-107. In: Eds. Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B. and Ziegler, H. *Physiological Plant Ecology*. I. Responses to the Physical Environment. *Encyclop. Plant Physiol. New Ser.*, Vol. 12A., Springer-Verlag.
3. Chirila, C. y D. Pintilie. 1986. Weeds in agricultural crops and their control (XXVI). Common Purslane (*Portulaca oleracea* L.) *Productia-Vegetala, Cereale-si-Plante-Tehnice*. 38(5): 45-47.
  4. Crawford, M., C. Galli, F. Visioli, S. Renand, A. P. Simopoulos and A. A. Spector. 2000. Role of plant derived omega- 3 fatty acid in human nutrition. *Ann Nutr Metab* 44: 263-265.
  5. Delascio CH., F. 1985. Algunas plantas usadas en la medicina empírica venezolana. Dirección de Investigaciones Biológicas. División de Vegetación. Jardín Botánico Inparques. Caracas. Venezuela.
  6. Evans, G.D. y A.P. Hughes. 1961. Plant growth and the aerial environment. I. Effects of artificial shading on *Impatiens parviflora*. *New Phytol.* 60:150-160.
  7. Feldman, E.B. 2002. The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary hearth disease. *J. Nutr.* 132:1062S-1101S.
  8. Fetcher, N., B.R. Strain y 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* 58: 314-319.
  9. Gebre, G.M., T.J. Tschaplinski, G.A. Tuskan y D. E. Todd. 1998. Clonal and seasonal differences in leaf osmotic potentials and organic solutes of two hybrid poplar clones under field conditions. *Tree Physiology* 18: 645-652.
  10. Hegsted, D. M., R. B. McGandy, M. I. Myers y F.J. Stare. 1965. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 171: 281-295.
  11. Hiroi, T. y M. Monsi. 1963. Physiological and ecological analysis of shade tolerance on plants. Effect of shading on growth attributes of *Helianthus annuus*. *Bot. Mag.* 76: 121-129.
  12. Holm, L.G., D.L. Plucknett, J.V. Pancho y J.P. Herberger. 1977. The world's worst weeds: Distribution and biology. East-west Ctr, University of Hawaii. Press. 609 pp.
  13. Hornstra, G. y R.N. Lussenberg. 1975. Relationship between the type of dietary fatty acid and the arterial thrombosis tendency in rats. *Atherosclerosis* 22: 499-516.
  14. Hoyos, J. 1985. Flora de la Isla de Margarita. Venezuela. Sociedad y Fundación La Salle de Ciencias Naturales, Monografía No. 34, Caracas, Venezuela. 927 pp.
  15. Kvet, J., J.P. Ondok, J. Necas y P.G. Jarvis. 1971. Methods of growth analysis. p 343-391. In: Z. Šestak, J. Catsky, and P.G. Jarvis (Eds.). *Plant Photosynthesis Production. Manual of Methods*. W. Junk, The Hague.
  16. Martin, J-L., I. Monjaud, J. Guidollet, P. Touboul y J. Delaye. 1994. Mediterranean alpha-linolenic acid- rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 343:1454-1459.
  17. Omara-Alwala, T.R., T. Mebrahtu, D.E. Prior y M.O. Ezekwe. 1991. Omega-three fatty acids in Purslane (*Portulaca oleracea*) tissues. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68(3): 198-199.
  18. Páez, A., M.E. González y J.J. Villasmil. 1997. Acclimation of *Panicum maximum* to different light regimes. Effect of subsequent defoliation. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 14: 625-639.
  19. Páez, A., M.E. González, J.A. Urdaneta, D. Paredes, D. Tissue y T.J. Tschaplinski. 1998. Índices de crecimiento y formación de compuestos orgánicos en *Barleria lupulina* sometida a dos condiciones de luminosidad. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 15: 515-525.

20. Patterson, D.T., S.O. Duke y R.E. Hoagland. 1978. Effects of irradiance during growth on adaptive photosynthetic characteristics of velvetleaf and cotton. *Plant Physiology* 61: 402-405.
21. Patterson, D.T. 1980. Shading effects on growth and partitioning of plant biomass in cogongrass (*Imperata cylindrica*) from shaded and exposed habitats. *J. Weed Sci.* 28(6): 735-740.
22. Simopoulos, A.P. 1987. Terrestrial sources of w-3 fatty acids: purslane. p. 93-107. In: Quebedeaux B. Bliss FA (Eds.). *Horticulture and Human Health: Contributions of Fruits and Vegetables*. Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall.
23. Simopoulos, A.P. y N. Salem Jr. 1986. Purslane: A terrestrial source of w-3 fatty acids. *N. Engl. J. Med.* 315(13):833.
24. Simopoulos, A.P., H.A. Norman, J. E. Gillaspay y J. A. Duke. 1992. Common Purslane: A source of Omega-3 fatty acids and antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.* 11(4):374-382.
25. Simopoulos, A.P., H.A. Norman, J. y E. Gillaspay. 1995. Purslane in human nutrition and its potential for world agriculture. *World Rev. Nutr. Diet* 77:47-74.
26. Simopoulos, A. P. 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 70 (3 suppl) 560S- 569S.
27. Simopoulos, A.P., A. Leaf y N. Salem Jr. 1999. Essentiality of and recommended dietary intakes for omega-6 and omega-3 fatty acids. *Ann. Nutr. Metab.* 43:127-130.
28. Simopoulos, A.P. 2001a. Mediterranean diets. What is so special about the diet of Greece? *The Scientific Evidence. J. Nutr.* 131:3065S-3073S
29. Simopoulos, A.P. 2001b. Evolutionary aspects of diet and essential fatty acids. In. T. Hamasaki, H. Okuyama (eds). *Fatty acids and lipids. New Findings. World Rev. Nutr. Diet* 88: 18 - 27.
30. Simopoulos, A.P. 2004. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. *Biol. Res.* 37:263-277
31. Tschaplinski, T.J., R.J. Norby y S.D. Wullschleger. 1993. Responses of loblolly pine seedling to elevated CO<sub>2</sub> and fluctuating water supply. *Tree Physiol.* 13:283-296.
32. Ulbricht, T.L.V. and D.A.T. Southgate. 1991. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *The Lancet* 338: 985-992.
33. White, D.C. y D.B. Ringelberg. 1998. Signature lipid biomarker analysis. p. 255-272. En: R.S. Burlage, R. Atlas, D. Stahl, G. Geesey, and G. Sayler (Eds.) *Techniques in microbial ecology*. Oxford University Press, Inc. New York.
34. Whitehead, F.H. 1973. The relationship between light intensity and reproductive capacity. p. 73-75. En: Slatyer, R.D. (Eds.). *Plant response to climatic factors*. UNESCO, Paris.