CATEDRA DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA

FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Juzgada el 13-octubre-1982

Calificación: Tesina - Sobresaliente

Grado - Sobresaliente

INFLUENCIA DEL FOTOPERIODO EN EL CONTENIDO DE CANNABINOIDES, Y PRESION DE SELECCION A FAVOR DE BAJO CONTENIDO DE THC(EN CULTIVOS DE Cannabis sativa L.).

Tesina presentada por Dª.
Elena Escubedo Rafa
y dirigida por el Dr. D.
Jorge Camarasa García,
para la colación del
grado de licenciatura.
Barcelona, Septiembre de 1.982

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA

0701740993

AGRADECIMIENTOS

Con el siguiente escrito desearía dejar constancia de que este trabajo ha podido llevarse a cabo gracias a la firme voluntad del Dr. TOMAS ADZET PORREDON, director del Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia de la Facultad de Farmacia de Barcelona, a quien quiero expresar, por ello, mi profundo agradecimiento.

Al Dr. JORGE CAMARASA GARCIA, que ha aceptado la dirección de la presente tesina, ya que con su valiosa ayuda y orientación ha hecho posible la realización de este estudio.

Al Dr. JOSE IGLESIAS ANGLES y Dra. Mª TERESA TORRENT MARTI por sus oportunas observaciones.

Al Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Farmacia de Barcelona por su colaboración bibliográfica.

También, especialmente, a mi compañera Mª ROSA COLL FORNAGUERA que tan sinceramente me ha ofrecido su apoyo en todo momento.

Y al resto de personal del Departamento por el estímulo que siempre he hallado en ellos.

INDICE

	pág.
I.- INTRODUCCION	1
1.- ASPECTOS FARMACOBOTANICOS Y FARMACOERGASICOS	3
1.1.- Descripción botánica	3
1.2.- Localización de los cultivos	12
1.3.- Elementos climáticos	15
1.4.- Edafología	21
1.5.- Cultivo, recolección y conservación de C. sativa L.	23
2.- COMPOSICION QUIMICA DE C. SATIVA L.	26
2.1.- Cannabinoides	28
2.1.1.- Estructura	28
2.1.2.- Biogénesis	42
3.- CLASIFICACION QUIMICA DEL CAÑAMO	44
4.- IMPORTANCIA DEL CANNABIS EN LA INDUSTRIA ACTUAL	49
5.- PRESENTACIONES COMERCIALES COMO DROGA	51
6.- ASPECTOS FARMACOCINETICOS Y FARMACODINAMICOS DEL CANNABIS	54
7.- APLICACIONES TERAPEUTICAS DEL CAÑAMO	57
8.- TECNICAS ANALITICAS APLICABLES A CANNABIS SATIVA L.	61
8.1.- Extracción de los cannabinoides	61
8.2.- Análisis de los cannabinoides	65
8.2.1.- Análisis cualitativo por cromatografía en capa fina	65

pág.

8.2.2.- Análisis cualitativo y cuantitativo por CGL 67

8.2.2.1.- CGL, fundamentos e instrumentación 67

8.2.2.2.- Metodología 71

8.2.2.3.- Condiciones operatorias 72

8.2.3.- Análisis estructural 74

9.- FOTOPERIODISMO 75

9.1.- Concepto 75

9.2.- Diversidad de respuestas al fotoperíodo 77

9.3.- Clasificación de las plantas según la influencia del fotoperíodo 80

9.4.- Respuestas cualitativas y cuantitativas 87

9.5.- Interacción con la temperatura 88

9.6.- Aspecto hormonal 90

9.7.- Receptor: Fitocromo 93

9.8.- Cambios que se inducen en el metabolismo foliar 98

9.8.1.- Cambios bioquímicos 99

9.8.1.1.- Metabolismo primario: RNA y proteínas 99

9.8.1.2.- Metabolismo secundario: Esteroides y sustancias responsables del crecimiento 100

9.8.2.- Cambios fisiológicos: Respiración y fotosíntesis 101

pág.

9.9.- Aplicación a la mejora fenotípica de C. sativa L. 102

9.9.1.- Resultados 105

10.- RADIACIONES γ 136

10.1.- Concepto 136

10.2.- Aplicación a la mejora genética de C. sativa L. 140

10.2.1.- Resultados 142

11.- CONCLUSIONES 165

12.- BIBLIOGRAFIA 167

I.- INTRODUCCION

Cannabis sativa L. es una planta de consumo milenario y de importancia relevante en el campo social de la drogadicción.

Se han hallado vasijas neolíticas, de aproximadamente 6.000 años de antigüedad, decoradas con dibujos que los arqueólogos identifican como plantas de cáñamo, lo cual nos revela que ya entonces tenía para ellos un determinado interés.

Es éste un vegetal de gran poder de adaptación. Las condiciones ambientales a las que se somete, influyen notablemente tanto en el desarrollo vegetativo que alcanza, como en su composición fitoquímica. De estas modificaciones dependerá la utilización que de él se haga.

Así en países cálidos, de donde el Cannabis es originario, la resina que se extrae de las inflorescencias femeninas presenta una gran riqueza en cannabinoides, y ostenta, por tanto, una elevada actividad farmacológica. En estas regiones su cultivo tiene pues, por objeto la producción y obtención de la resina con fines ilícitos, por todos conocidos.

En cambio, en países templados, la adaptación a condiciones climáticas distintas ha dado lugar a una planta cuya resina contiene una menor proporción de principios alucinógenos.

Sin embargo, en esta variedad las fibras se caracterizan por una mayor longitud y resistencia. Esta propiedad explica su aplicación a la industria papelera y textil, que alcanzó su máximo desarrollo en la segunda mitad del siglo XIX.

Actualmente, su importancia en este último campo ha dis-

minuído notablemente debido a la aparición de fibras sintéticas, pero su interés en la industria papelera , y más concretamente en la fabricación de papel de cigarrillos y de biblia, sigue siendo notorio.

Con este último fin, se ha procedido a la aclimatación de plantas de origen ruso a la región del delta del Ebro, en la zona de La Cava. Una vez conseguida ésta, en el Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia de la Facultad de Farmacia de Barcelona se inició, hace unos años, un estudio con vistas a la consecución de razas químicas con bajo contenido en cannabinoides, y de desarrollo adecuado para el uso de sus fibras.

En esta misma línea se halla el presente trabajo. En él se ha procedido a comprobar la posible influencia que el fotoperíodo puede ejercer en la composición de la resina, deduciendo de ello la época del año más idónea para su siembra, que ha resultado estar en concordancia con experiencias anteriores de este mismo Departamento.

Un segundo intento de mejora genética ha sido llevado a cabo sometiendo la planta a radiaciones γ. Con este método logramos aumentar, considerablemente, la frecuencia de mutantes en una única generación de individuos. Este fenómeno, que nos llevaría años siguiendo el proceso natural de cultivo, se obtiene en unos pocos meses, simplemente exponiendo las semillas de Cannabis a la acción de una bomba de cobalto.

Posteriormente, los análisis nos darán a conocer si con esta inducción mutagénica se consiguen individuos que se acercan más al objetivo deseado.

1.- ASPECTOS FARMACOBOTANICOS Y FARMACOERGASICOS

1.1.- Descripción botánica

La primera descripción botánica de Cannabis sativa L. está ya presente en el Rh-ya y posee por tanto unos quinientos años de antigüedad. En ella se distinguen dos tipos de plantas, las productoras de semillas y las que únicamente forman flores.

El estudio taxonómico del cáñamo nos permite clasificarlo de la siguiente manera (STRASBURGER 1.974).

División ..... Espermatófitas.
Subdivisión .... Magnoliafitinas (Angiospermas).
Clase ..... Magnoliatas (Dicotiledóneas).
Subclase ..... Hamamelididas (Amentíferas).
Orden ..... Urticales.
Familia ..... Cannabináceas.
Género ..... Cannabis.
Especie ..... Cannabis sativa L.

El cáñamo es una planta dioica, herbácea, y como la mayoría de éstas anual. Su porte ramificado es característico, así como el fuerte olor que desprende y su sabor herbáceo aromático.

Puede alcanzar una altura de 1,5 a 3 metros si las condiciones ambientales le son propicias, e incluso 6 metros en los países de donde es originaria (aunque algunos autores describen las plantas que sobrepasan los 3 metros como una variedad distinta (DELILLE)).

El tallo es erguido, rígido y de forma acanalada, de donde le viene el nombre de Cannabis (Canna-avis) (LOSA y col. 1.961).

Es pegajoso al tacto y de color verde oscuro. De él parten las hojas opuestas y decusadas, con un largo peciolo, en cuya base aparece una estípula rectiforme. Su limbo es palmatipartido, con cinco, siete, nueve, y raras veces once folíolos pubescentes, de forma lanceolada, borde aserrado, y de tamaño desigual, siendo el central el mayor, y más pequeños los de los extremos, dando así la apariencia de una "mano abierta" (DECOURTIVE 1.848). Sin embargo en las proximidades de las inflorescencias y hacia la cúspide del tallo las hojas aparecen alternas, simples o trifoliadas (Fig. 2) (CADEVALL 1.933).

Los pies femeninos poseen una raíz muy desarrollada, fusiforme, leñosa y de color blanquecino. Ostentan asimismo un tallo alto y robusto, y sus inflorescencias forman racimos compactos de cimas intercaladas con brácteas foliares (Fig. 1).

La flor femenina consta de un cáliz en forma de orza de un solo sépalo y con un ovario sésil, bicarpelar y unilocular, flanqueado por dos largos estigmas pubescentes, en ocasiones de color rosado. Dicho ovario contiene un único óvulo en disposición campilótropa (primordios seminales torcidos, y transversales respecto al funículo).

De esta flor aparece posteriormente un fruto en aquenio (cañamón) globuloso, de consistencia blanda y de color grisáceo con manchas parduzcas. Este puede contener hasta un 35% de aceite secante amarillo-verdoso o parduzco, fácilmente enranciable (Fig. 2).

Alrededor del mismo encontramos una bráctea con abundantes glándulas secretoras de resina.

Las semillas, que poseen un embrión curvo, están casi desprovistas de albumen y sus cotiledones son gruesos y carnosos, conteniendo aleurona y lípidos como componentes fundamentales

del material de reserva, y además glucosa y resina en proporciones del 1'5% y 0'3% respectivamente.

El sistema radicular de los pies masculinos está menos desarrollado, así como el tallo que alcanza una menor altura y grosor, aunque los entrenudos se alargan rápidamente en el momento de la antesis (CRETÉ 1.965).

Las hojas son menos segmentadas y están ausentes en la inflorescencia terminal. De ahí su aspecto más esbelto (Fig. 1).

Todo ello llevó en un principio a que Lenmery (1,733), Matthiole, Dodeus, Tragus, Bahina y otros llamaran al pie masculino Cannabis foemina o Cannabis sterilis. Actualmente en los países nórdicos se le denomina popularmente "finmel", del latín "foemina" (hembra), y al pie femenino, más alto y más grueso, le llaman "maschel", del latín "masculus" (macho) (VERDEJO VIVAS 1.970).

Las flores masculinas son poco llamativas, amarillo-verdosas, dispuestas en cimas, y éstas a su vez en panículos colgantes. Presentan cinco sépalos y cinco estambres episépalos (verticilo estaminal externo situado alternando con los "pétalos", pero encima de los sépalos), de grandes anteras y dehiscentes por dos hendeduras longitudinales (Fig. 2).

Según Schaffer (1.921), si las semillas se siembran en invierno y se exponen a débil iluminación, pueden aparecer pies que presenten flores hermafroditas o formas de transición entre las flores unisexuadas y aquellas, y también variedades monoicas que se distinguen por agrupar a la vez flores femeninas y flores masculinas, aunque con claro predominio de las femeninas, llegando a alcanzar los dos metros de altura.

FIGURA 1

(VER OTRA 1 262)

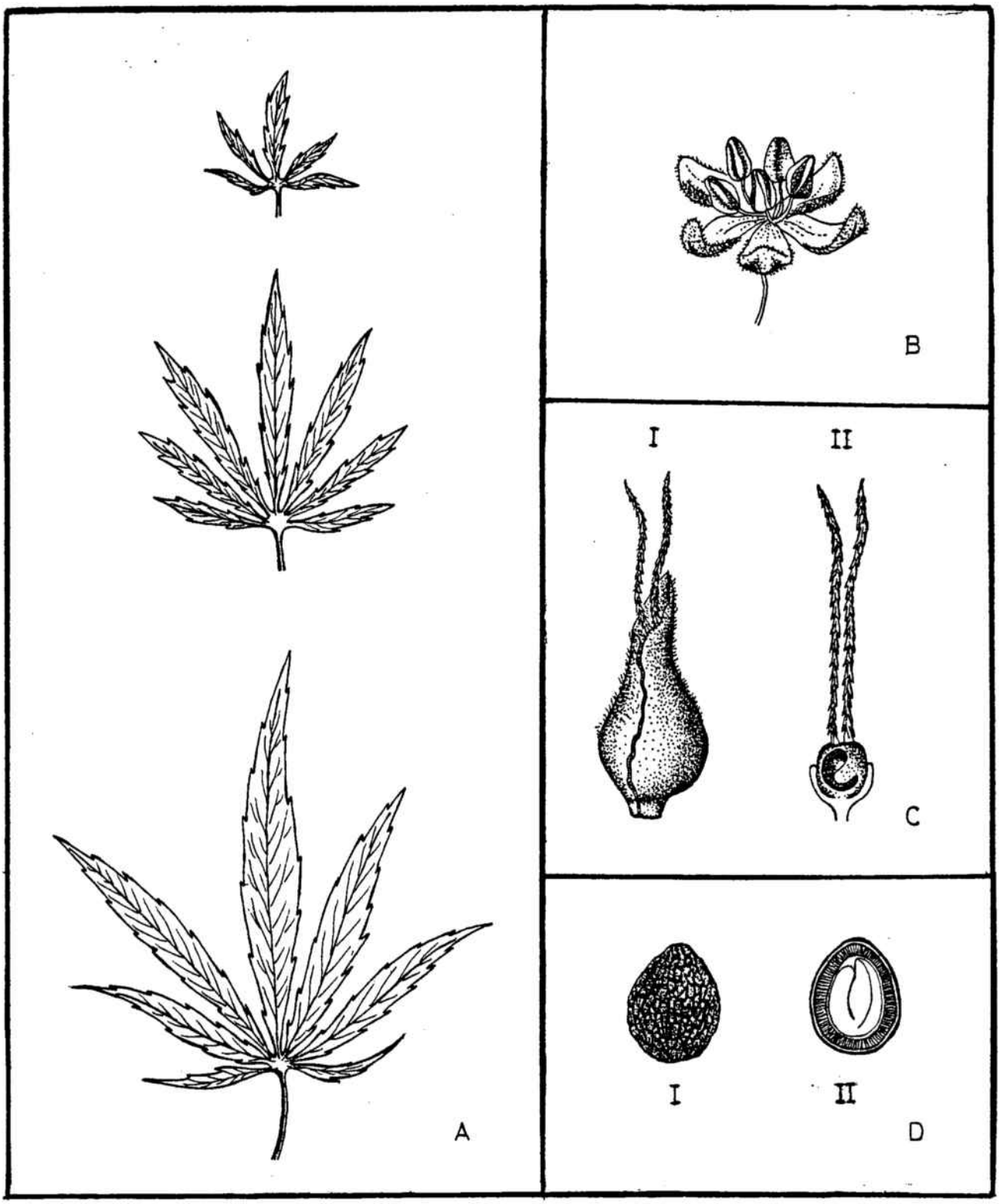


FIGURA 2

A) HOJAS

B) FLOR MASCULINA

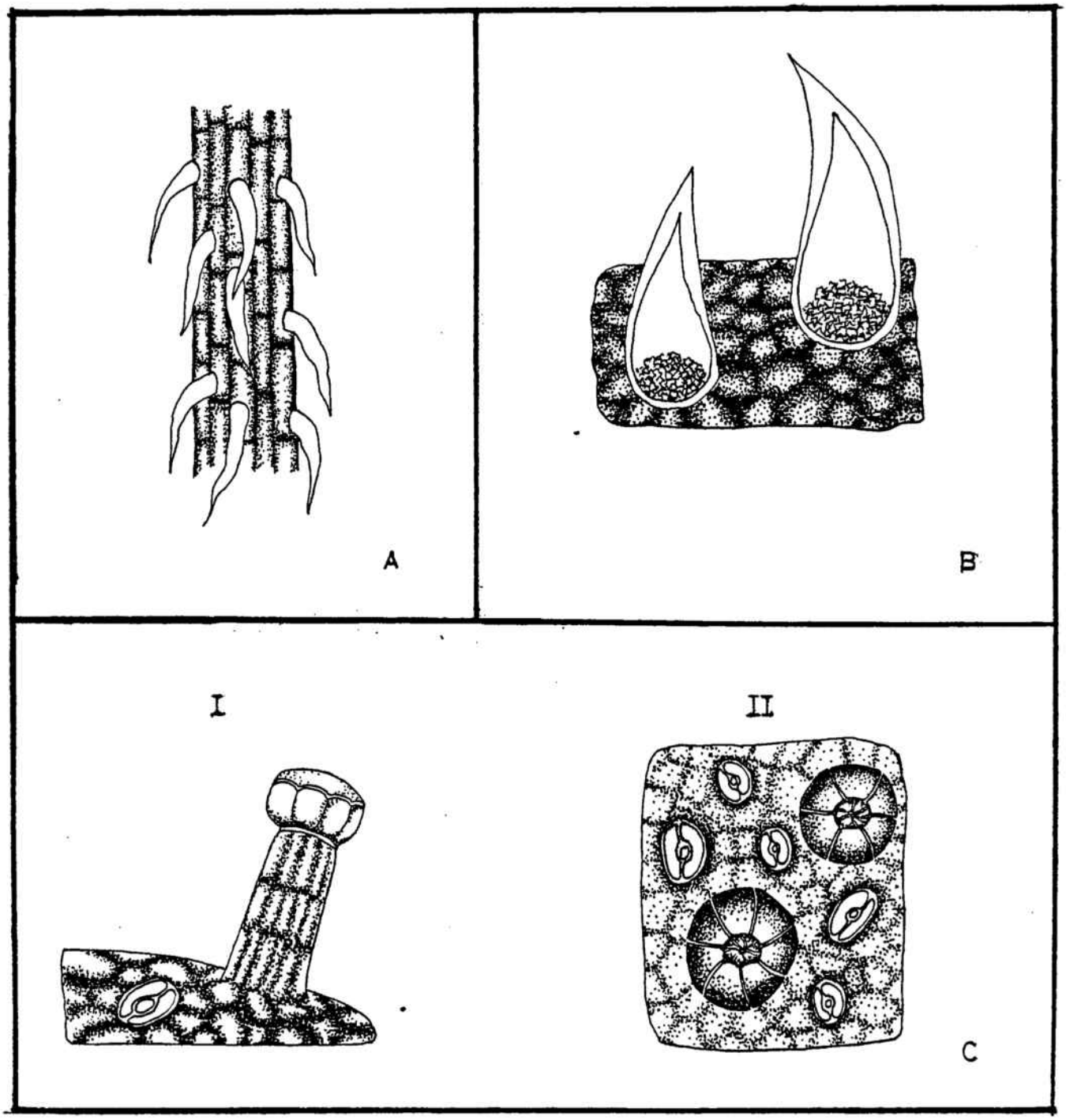
C) I.- FLOR FEMENINA

II.- CORTE LONGITUDINAL DE FLOR FEMENINA

D) I.- FRUTO

II.- CORTE LONGITUDINAL DEL FRUTO

FIGURA 3



A) PELOS TECTORES

B) PELOS UNICELULARES CISTOLITICOS

C) PELOS SECRETORES:

I.- VISION LATERAL

II.- VISION FRONTAL

Los caracteres morfológicos de la planta hacen que su reconocimiento no presente dificultad sea cual sea el estadío vegetativo en que se halle.

Histológicamente la corteza del tallo está formada por un colénquima y varias capas de parénquima.

El xilema presenta una abundante lignificación, mientras que el floema la presenta solamente bajo determinadas condiciones.

Este tallo posee también un gran número de fibras pericíclicas, de considerable longitud, celulósicas y resistentes, que explicarían la aplicación del cáñamo en la industria textil y papelera.

Los radios medulares están formados por células anchas, y en la misma médula pueden distinguirse gran número de rosetas de oxalato cálcico.

Las hojas presentan un mesófilo heterogéneo asimétrico y parénquima en empalizada, con cristales de oxalato cálcico y numerosas cavidades formadas por filas de células.

En su epidermis se observan tres tipos de pelos o tricomas (STAHL 1.975) (Fig. 3):

A.- Pelos tectores simples.

B.- Pelos unicelulares de distinta longitud que contienen cistolitos en su base.

C.- Pelos secretores o tricomas glandulares de pie y cabeza pluricelular. Según estudios de De Pasquale (1.974), Malingré y col. (1.975), Hammond (1.973) y Mahlberg (1.977) con microscopio electrónico de barrido, se clasifican en tres grupos:

. Glándulas bulbosas de pedúnculo corto y cabeza pe-

queña.

- Glándulas sésiles de cabeza globular y pluricelular.
- Glándulas pedunculadas de gran cabeza multicelular y pie variable.

Se ha atribuído a estos tricomas la producción de los cannabinoides.

Son menos abundantes en las plantas masculinas.

A pesar de esta descripción debe señalarse que Cannabis sativa L. es un vegetal inestable, una planta cuyo aspecto, talle, ramificaciones, hojas y propiedades alucinógenas varían según las condiciones ecológicas.

Ello ha dado lugar a interminables controversias sobre la existencia de una o varias especies dentro del mismo género:

Linné (1.753) reconocía una sola especie, C. sativa.

Lamark (1.783) describe ya una segunda especie, C. indica, aunque con anterioridad Rumphius (1.750) había señalado ya que el cáñamo cultivado en la India difería del de nuestras latitudes. Opinión que fue compartida por el botánico Sonnerat.

Apoyándose en los trabajos de Forskall, Delille, Figari, Husson, Christison, Baillos y otros, Bouquet en 1.912 presenta el género Cannabis constituído por una sola especie, aunque conserva tres variedades (las consideradas en la actualidad).

Posteriores discusiones surgieron como resultado de los estudios desarrollados por Janischevsky (1.924), Chopra y Chopra (1.957), Schultes (1.970, 1.974), Emboden (1.974) y Small (1.972, 1.975).

Parece ser que actualmente se considera la familia de las Cannabináceas formada por dos géneros: Húmulus y Cannabis, y

éste último por una sola especie, aunque con dos o incluso tres variedades distintas:

- C. sativa variedad vulgaris, utilizada por sus fibras y objeto de nuestro estudio. Es propia de regiones templadas.
- C. sativa variedad índica, usada por el alto contenido en cannabinoides de su resina. Característica de las zonas tropicales y subtropicales.
- Delille admite una tercera variedad, C. sativa sinensis, parecida a la vulgaris, pero de mayor altura.

1.2.- Localización de los cultivos

Los cultivos de Cannabis sativa L. que han servido de base para el presente estudio se hallan enclavados en la localidad de la Cava, ubicada en el delta del Ebro (Fig. 4).

El delta del Ebro está situado en la comarca del " Baix Ebre", provincia de Tarragona.

Como todo delta representa una zona de transición entre el ambiente marino, fluvial y terrestre, caracterizada por una estacional e intensa variabilidad. Pueden distinguirse claramente dos zonas :

1.- Una zona próxima a la costa, sometida a constante desecación , y que ostenta por tanto una elevada salinidad, y

2.- Otra no salina , de aporte principalmente fluvial.

El delta del Ebro puede considerarse un ejemplo de transición entre los deltas dominados por el río y los deltas dominados por las olas.

Se caracteriza por ser de extensión más bien reducida, ya que su área total representa unos 350 Km^2. La secuencia sedimentaria es considerable. Los lóbulos deltaicos han sufrido constantes evoluciones, y ello ha dado lugar a la formación de la llanura deltaica, donde se hallan los cultivos de las plantas objeto de este estudio.

Uno de los principales factores que influyen en el desarrollo deltaico es el régimen fluvial y primordialmente su descarga.

El río Ebro se caracteriza por presentar grandes variaciones de caudal según la estación.

La descarga fluvial ha ido disminuyendo en las últimas décadas debido a la construcción de presas y al aumento de las zonas cultivadas.

El máximo de descarga ocurre en primavera (Marzo) , y el mínimo en verano.

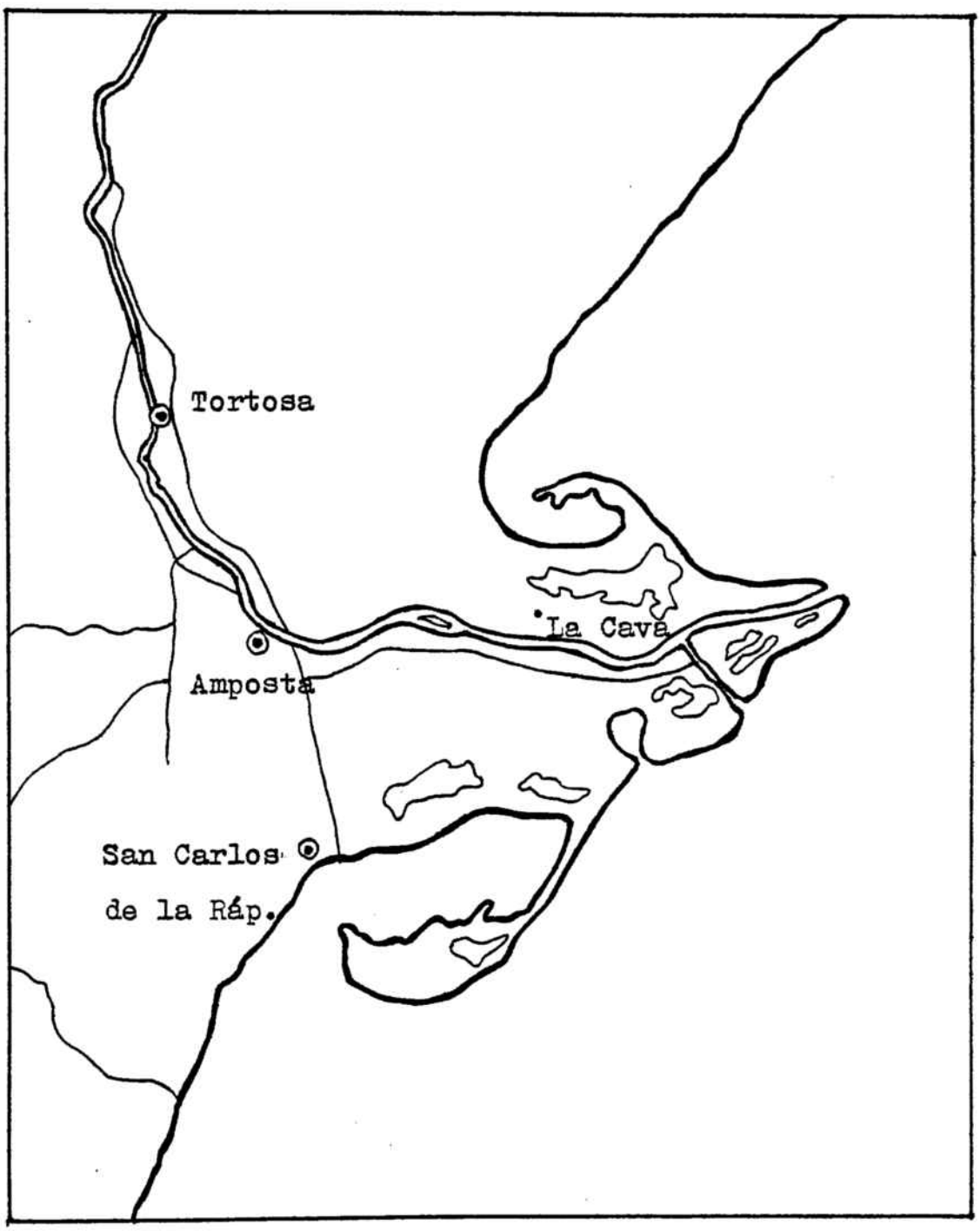
Otros factores de interés para el desarrollo deltaico son los procesos costeros, las mareas, las secas (olas muy espaciadas generadas por fuertes cambios de presión o por una elevada fricción entre los fuertes vientos y el mar), los levantes (temporales marinos en dirección E-NE), los vientos provenientes del N-NW, las corrientes del Mediterráneo y la temperatura del agua del mar (MARGALEF 1.974) (DAJOZ 1.974).

En cuanto a los suelos cabe distinguir los francos utilizados para la agricultura , y los suelos salobres, pantanosos y arenosos.

El cáñamo se cultiva en los suelos francos profundos, no salinos, constituídos por depósitos fluviales. Estos suelos próximos al curso del río tienen a escasa profundidad un nivel freático de agua dulce. Estas condiciones de sustrato permiten también el cultivo de cereales de regadío, vegetales de huerta y frutales,siendo idóneas para el desarrollo de bosques de ribera (álamos y sauces principalmente) (MALDONADO 1.977, CAMARASA y col. 1.977).

FIGURA 4

DELTA DEL EBRO



1.3.- Elementos climáticos

Se entienden como tales los componentes en que se divide el clima para su estudio: temperatura, viento, humedad, insolación, precipitación, etc.

La caracterización de cada uno de ellos se obtiene a partir de observaciones sistemáticas durante un período de tiempo determinado. La recopilación de éstas nos lleva a la conclusión de que el clima del delta del Ebro es de tipo mediterráneo litoral.

La precipitación media por año es de 53 cm , variando de 30 a 80 cm. En cambio la nieve es escasa.

La temperatura varía entre 26ºC en los meses de Julio y Agosto, a 10ºC en Enero. Las temperaturas máximas y mínimas a lo largo del año varían entre 39ºC y -6ºC, estando la temperatura por debajo de cero menos del 8% del año (SOLÉ Y SABARÍS 1.958)(MALDONADO 1.977).

Los vientos son muy variables y sus velocidades oscilan de 50 a 100 Km/h. Son frecuentes los del NW y N (tramontana, cierzo y sobre todo el maestral). A veces pueden darse también vientos del NE.

La humedad suele ser superior al 60%, siendo el mes de Agosto casi tan húmedo como el invierno, pero en primavera la sequedad puede llegar a ser alarmante en algunos casos (Fig.5).

Ya que la temperatura y la precipitación atmosférica son los elementos climáticos de mayor interés, se ha hecho la representación gráfica de sus valores para 1.981, año en que tuvieron lugar los cultivos que son objeto de nuestro estudio (Fig. 6) (ESCOROU 1.978).

Como el propósito del presente trabajo es averiguar la influencia del fotoperíodo en el contenido de cannabinoides, se ha tomado nota de las horas de insolación diarias durante todo el año. De este modo se obtiene la gráfica que se reproduce en la figura 7.

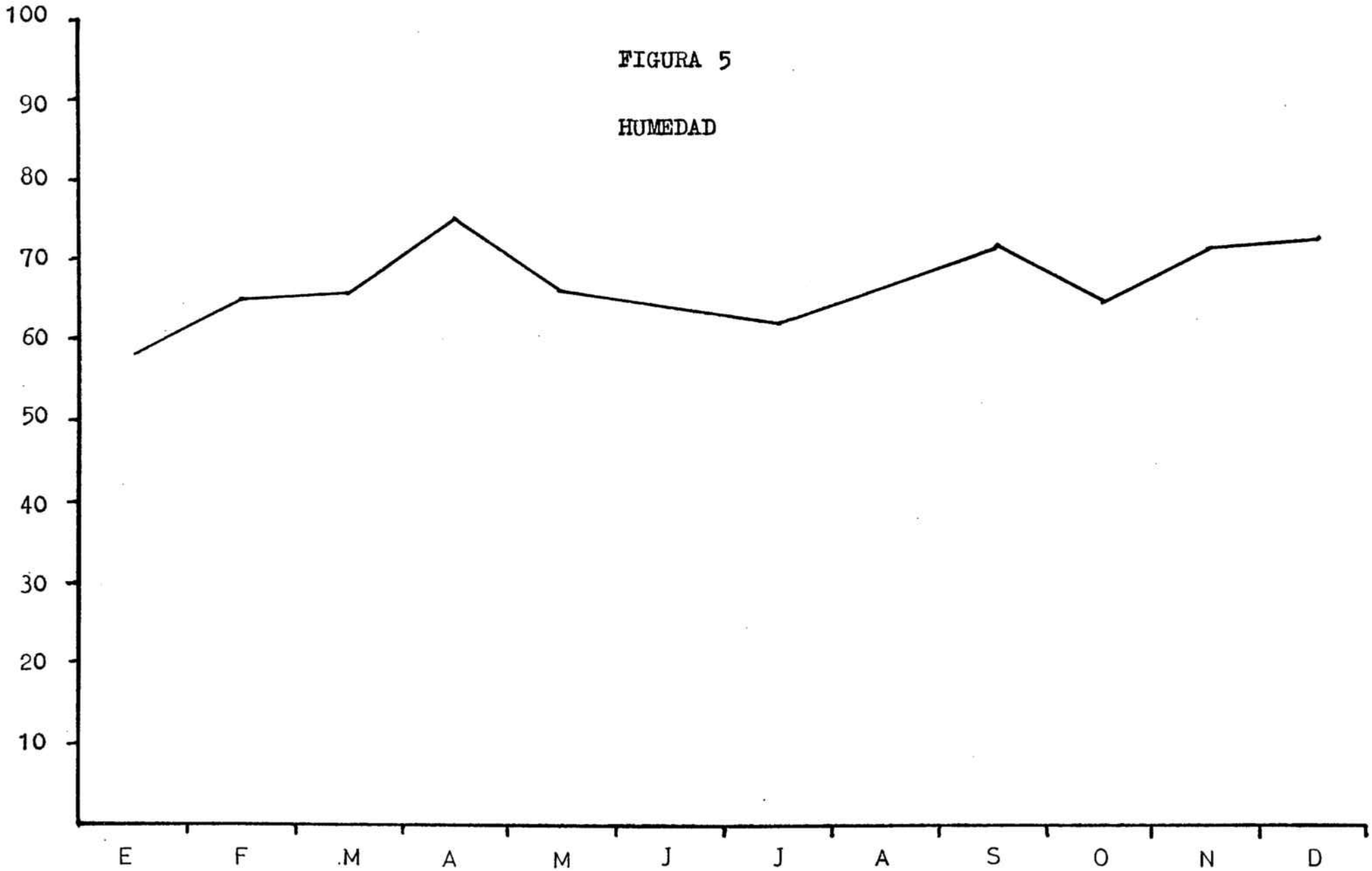
TABLA I

DATOS CLIMATOLOGICOS DEL DELTA DEL EBRO DURANTE EL AÑO 1.981

	HUMEDAD %	TEMPERATURA MINIMA ºC	TEMPERATURA MAXIMA ºC	TEMPERATURA MEDIA ºC	PRECIPITACION mm	INSOLACION h/día
ENERO	58	6,4	15,8	11,1	7,8	5,71
FEBRERO	65	4	14,9	9,5	57,8	4,80
MARZO	66	8,9	21,7	15,3	8,4	5,71
ABRIL	75	10,2	19,9	15,0	141,7	4,30
MAYO	66	11,9	23,0	17,5	34,6	7,68
JUNIO	64	16,4	29,0	22,7	71,0	10,09
JULIO	62	17,5	29,7	23,6	23,4	11,20
AGOSTO	67	18,1	31,3	24,7	3,5	8,14
SEPTIEMBRE	72	17,1	29,3	23,2	52,4	6,85
OCTUBRE	65	13,9	25,4	19,7	10,5	7,26
NOVIEMBRE	72	9,0	20,5	14,8	0,1	5,75
DICIEMBRE	73	8,1	17,9	12,0	0,2	6,50

FIGURA 5

HUMEDAD



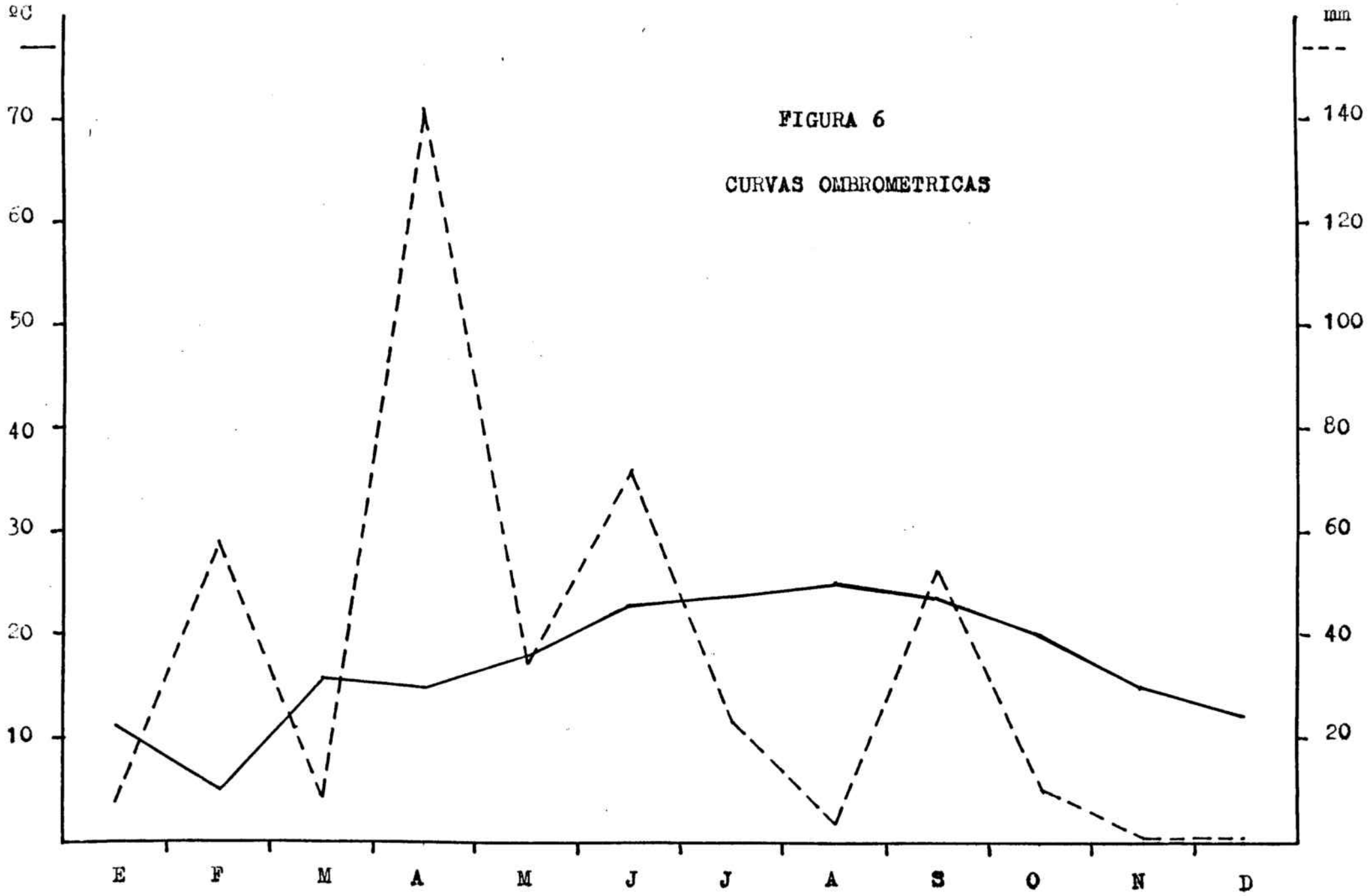


FIGURA 6

CURVAS OMBROMETRICAS

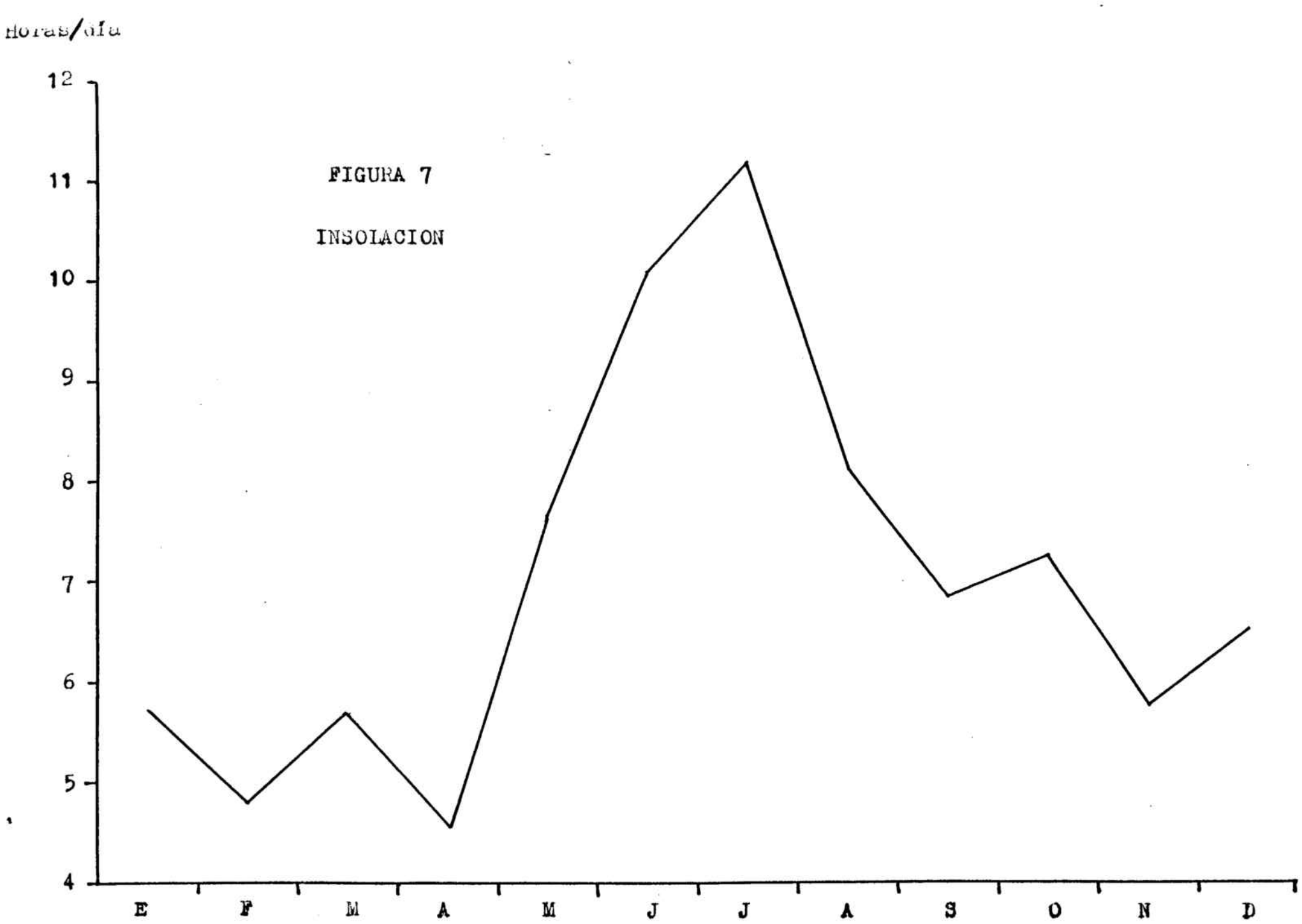


FIGURA 7

INSOLACION

1.4.- Edafología

Los condicionamientos edáficos varían notablemente de una zona a otra en el mismo delta, debido a su misma dinámica de formación, al crecimiento de sus lóbulos, a los cambios de curso de la parte final del río, al volumen de los aportes fluviales, etc, (CAMARASA y col. 1.977).

El terreno donde en concreto se cultiva el Cannabis se caracteriza por ser de una salinidad relativamente baja (0'16 mmho/cm) y ligeramente alcalino, ya que el pH tiene un valor aproximado de 7'96.

Su humus (aerobio) es un mull cálcico de color gris beige, dispuesto en grumos gruesos que favorece la presencia de lombrices. Los elementos dominantes de su microflora son las bacterias y los actinomicetos.

El fósforo, elemento primordial para el crecimiento de las plantas, se halla presente tan sólo en 23 ppm ya que la caliza disminuye su asimilabilidad. De este modo los microorganismos utilizan la totalidad de este fósforo para sus propias síntesis, haciendo más difícil la mineralización. Pero la riqueza en calcio de este suelo favorece la síntesis de fósforo orgánico por la microflora, dando lugar entonces a una rápida nitrificación.

El pH próximo a ocho, la presencia de abundantes carbonatos y el humus de tipo mull cálcico permiten clasificar este suelo como aluvial calcimorfo relacionado com las rendsinas. (DUCHAUFOUR 1.975).

La humedad y la materia orgánica tienen unos valores medios de 1'99% y 2'96% respectivamente.

Su rico contenido en elementos minerales lo capacita para la práctica del cultivo. Como ejemplos podemos citar los siguientes :

Nitrógeno ..... 0'18%

Potasio ..... 322 ppm

Carbono/Nitrógeno ..... 9'25

Carbono ..... 1'72%

Carbonatos ..... 35'86%

Calcio ..... 44'2 mEq/100g

El magnesio, con un valor de 3 mEq/100g, resulta insuficiente para los requerimientos fotosintéticos, provocando frecuentes clorosis en cultivos no tratados.

Es por ello que se requiere la adición de abonos a fin de obtener un óptimo grado de rendimiento del cultivo (DEMOLON 1.966).

1.5.- Cultivo, recolección y conservación de C. sativa L.

El cáñamo es una planta que crece con gran rapidez. Suele sembrarse a mediados del mes de Abril. Por su dependencia del fotoperíodo, la floración en una zona determinada tendrá lugar en la misma época (Jülio), sea cual sea la fecha de siembra, siempre que ésta se realice en la temporada propicia.

Puesto que al florecer se interrumpe el crecimiento, interesa una siembra precoz que dé lugar a plantas de mayor desarrollo, y por tanto de mayor contenido en fibras.

Con objeto de observar la influencia en particular del fotoperíodo, se han practicado siembras sucesivas durante el mes de Abril, Mayo, Junio y Julio a intervalos de quince días aproximadamente.

La siembra deberá ir siempre acompañada de sachadura y binación, así como de una primera práctica de riego, mientras que la segunda no deberá realizarse antes de que el cáñamo alcance los 40-50 cm de altura.

Las necesidades de agua durante el crecimiento se calculan en unos 4.500 m^3 por Ha, incluídos los que provienen de la lluvia (considerando una dosis de siembra de 40-60 Kg/Ha).

Su cultivo exige suelos fértiles y profundos, de pH próximo a la neutralidad y nunca salinos. Es por ello que las tierras procedentes de aluvión, como son las utilizadas en nuestro caso, producen las mejores cosechas.

Durante el invierno se requiere una labor de profundidad a unos 40 cm. para que la tierra acuse la influencia beneficiosa del hielo. A la vez se incorporará al terreno de 30 a 50 Tm de estiércol por Ha.

Un mes antes de la siembra e inmediatamente antes de la misma se aplicará una labor superficial.

Las plagas y enfermedades no son muy frecuentes en cultivos sometidos a rigurosa vigilancia. En zonas maiceras pueden sufrir el ataque del gusano del maíz (Pyrausta nubilalis), lo cual dificulta la siega pero no influye en gran medida en el rendimiento. También es afectada por larvas, pulgones, aves y plantas que se fijan a su corteza como Cuscuta major D.C., Phelipaea ramosa C.A. Mey., orobanques, etc. En ocasiones el vegetal puede padecer parasitosis por "Peronospora cannabina" Otth., "Botrytis cinerea" Pers,, "Sclerotinia libertiana" Fuckel, "Septoria cannabis" (Lasch) Sacc. (DELACROIX, MAUBLANC 1.931).

La recolección, que tiene lugar en verano, es la fase más delicada. Existen dos posibilidades de practicarla:

1.- Cuando la maduración es completa (Septiembre). Permite obtener las fibras y las semillas. Pero existe el constante riesgo de las lluvias.

2.- Al terminar la floración, en el mes de Agosto. Ocho días después, cuando está ya seco (11% humedad), se someten a prensado y se confeccionan las balas. De este modo se obtienen únicamente las fibras.

Como en nuestro caso nos interesa analizar el contenido de principios alucinógenos de la resina, deben recogerse las sumidades florales femeninas en el inicio de la floración, que es el momento óptimo (FOURNIER 1.976, 1.980).

Esta resina se acumula principalmente en los pequeños pelos glandulosos de las brácteas de estas inflorescencias, pero también en las flores, hojas y tallo, y en menor cuantía en la

raíz.

Es sabido que los cannabinoides que la componen son apreciablemente sensibles a la luz y también al calor sufriendo ciclaciones, hidrogenaciones o descarboxilaciones. Todo ello hace que la conservación tenga que llevarse a cabo de modo esmerado si quieren obtenerse resultados analíticos fiables.

Así pues, posteriormente a la recolección se someten a desecación al aire libre, y el almacenamiento ulterior se hace en bolsas herméticas a temperatura ambiente.

2.- COMPOSICION QUIMICA DE C. SATIVA L.

Cannabis sativa L. es una especie donde se ven representados gran número de constituyentes químicos de los más diversos grupos, de los cuales se han aislado 428 que se exponen a continuación (IGLESIAS 1.981) :

1.- TERPENOIDES	167
I) Cannabinoides	64
II) Terpenos	103
• Monoterpenos	58
• Sesquiterpenos	38
• Diterpenos	1
• Triterpenos	2
• Otros derivados terpénicos	4
2.- COMPUESTOS NITROGENADOS	49
• Bases de amonio cuaternario	5
• Aminas	12
• Amidas	1
• Alcaloides	4
• Aminoácidos	18
• Enzimas	6
• Proteínas estructurales	3
3.- AZÚCARES Y DERIVADOS	34
• Monosacáridos	13
• Disacáridos	2
• Polisacáridos	5
• Ciclitoles	12
• Aminoazúcares	2
4.- HIDROCARBUROS	50

5.- ALCOHOLES ALIFÁTICOS SIMPLES	7
. Saturados	6
. Etilénicos	1
6.- ALDEHÍDOS SIMPLES	12
. Alifáticos	11
. Aromáticos	1
7.- CETONAS SIMPLES	13
. Alifáticas	11
. Ciclánicas	2
8.- ACIDOS	32
. Simples	15
. Acidos fenoles y derivados	5
. Acidos grasos	12
9.- ESTERES SIMPLES	12
10.- LACTONAS	1
11.- ESTEROIDES	11
12.- FENOLES NO CANNABINOÍDICOS	16
. Fenoles simples y sus ésteres	5
. Compuestos espiro-indánicos	6 *
. Compuestos estilbénicos	4
. Compuestos fenantrénicos	1
13.- FLAVONÓSIDOS	19
. O-Heterósidos	6
. C-Heterósidos	13
14.- VITAMINAS	2
15.- PIGMENTOS	3
	428

* Se ha detectado la presencia de un séptimo fenol no cannabinoídico en la fracción ácida de una variedad panameña, al que se ha denominado Iso-cannabiespirano (EISOHY 1.982).

2.1.- Cannabinoides

2.1.1.- Estructura

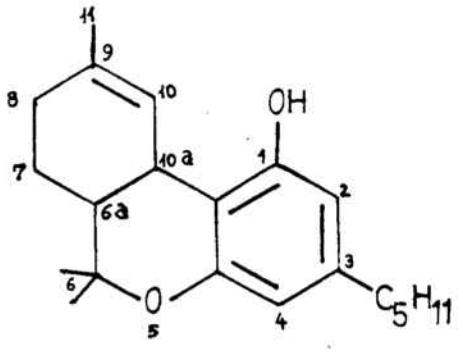
Mechoulam (1.973) agrupa bajo la denominación de cannabinoides los principales compuestos del cáñamo de 21 átomos de carbono, sus ácidos, sus análogos, y sus productos de transformación. En general se aplica para ellos la definición de compuestos tricíclicos de origen terpénico, que junto a sus ácidos carboxílicos y otros derivados, así como sus productos de transformación, se encuentran en Cannabis sativa L.

Se consideran los componentes más importantes, desde el punto de vista farmacológico, de este vegetal, ya que de su concentración dependerá que la planta produzca un mayor o menor grado de alucinación. Se ha observado que la actividad psicotropa está en relación con el contenido de uno de ellos, en particular del Δ^9-THC o Δ^1-THC.

Existen cinco sistemas de numeración para los cannabinoides, aunque habitualmente se utilizan únicamente dos.

En el presente trabajo se aplicará el método de numeración que postula la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), que considera como núcleo básico el dibenzopirano.

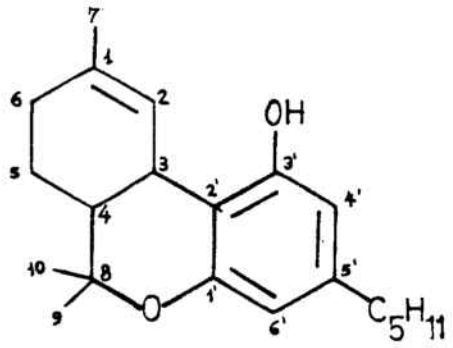
Ejemplo:



Δ^9-THC

Mechoulam (1.975) y la mayor parte de los investigadores europeos utilizan el sistema de numeración de monoterpeno basándose en el p-cimeno, de interés biogenético.

Ejemplo:



Δ^1-THC

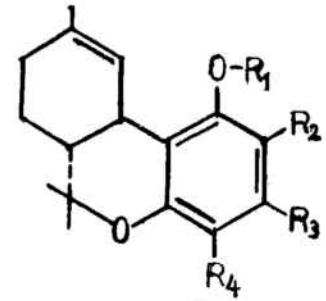
En la actualidad se conocen 64 cannabinoides que se distribuyen en 11 grupos, los cuales se denominan por el cannabinoide tipo del que deriva cada uno de éstos.

Antes de pasar a la exposición detallada de éllos, cabe destacar que todos los cannabinoides que poseen un grupo propilo en posición 3 se nombran con la terminación -varol o -varinol, y los que en esta posición tengan un radical metilo, con el sufijo -orcol u -orsinol.

La siguiente clasificación está basada en los trabajos de Fournier (1.979) y Turner y col. (1.980, 1.981).

TABLA II - A

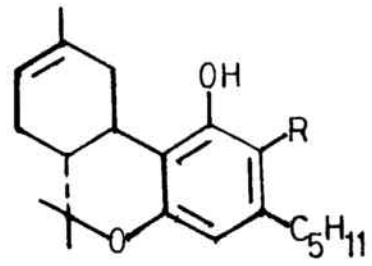
Δ^9-TETRAHIDROCANNABINOL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	R_3	R_4	AUTORES
Ácido Δ^9-tetrahidrocannabinólico A	A Δ^9-THC-C_5 A	H	COOH	C_5H_{11}	H	KORTE y col., 1.965 YAMAUCHI y col., 1.967
Ácido Δ^9-tetrahidrocannabinólico B	A Δ^9-THC-C_5 B	H	H	C_5H_{11}	COOH	MECHOULAM y col., 1.969
Ácido Butil-Δ^9-tetrahidrocannabinólico	A Δ^9-THC-C_4	H	COOH	C_4H_9	H	HARVEY, 1.976
Ácido Δ^9-tetrahidrocannabivaróllico	A Δ^9-THC-C_3	H	COOH	C_3H_7	H	PARIS y col., 1.973
Ácido Δ^9-tetrahidrocannabiorcólico	A Δ^9-THC-C_1	H	COOH	CH_3	H	HARVEY, 1.976
Δ^9-tetrahidrocannabinol	Δ^9-THC-C_5	H	H	C_5H_{11}	H	GAONI Y MECHOULAM, 1.964
Butil-Δ^9-tetrahidrocannabinol	Δ^9-THC-C_4	H	H	C_4H_9	H	HARVEY, 1.976
Δ^9-tetrahidrocannabivarol o Δ^9-tetrahidrocannabivarinol	Δ^9-THC-C_3	H	H	C_3H_7	H	GILL, 1.971
Δ^9-tetrahidrocannabiorcol o Δ^9-tetrahidrocannabiorsinol	Δ^9-THC-C_1	H	H	CH_3	H	VREE y col., 1.972
Éter metílico del Δ^9-tetrahidrocannabinol	EM-Δ^9-THC-C_5	CH_3	H	C_5H_{11}	H	BERCH y col., 1.973

TABLA II - B

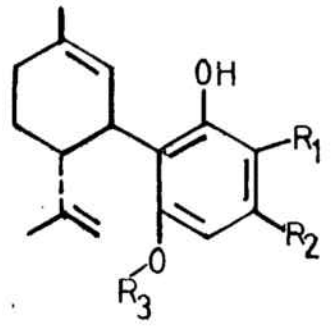
Δ^8-TETRAHIDROCANNABINOL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R	AUTORES
Acido Δ^8-tetrahidrocannabinólico	A Δ^8-THC-C_5	COOH	HANUS Y KREJCI, 1.975
Δ^8-tetrahidrocannabinol	Δ^8-THC-C_5	H	HIVELY y col., 1.966

TABLA II - C

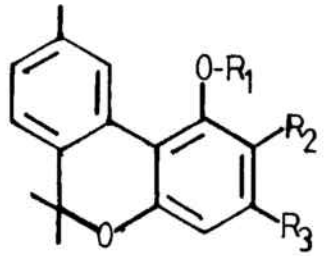
CANNABIDIOL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	R_3	AUTORES
Ácido cannabidiólico	A CBD-C_5	COOH	C_5H_{11}	H	KREJCI Y SANTAVY, 1.955
Ácido cannabidivaróLico	A CBD-C_3	COOH	C_3H_7	H	WALLER, 1.973 SHOYAMA y col., 1.977
Cannabidiol	CBD-C_5	H	C_5H_{11}	H	ADAMS y col., 1.940 JACOB Y TODD, 1.940
Butil cannabidiol	CBD-C_4	H	C_4H_9	H	HARVEY, 1.976
Cannabidivarol o cannabidivarinol	CBD-C_3	H	C_3H_7	H	VOLLNER y col., 1.969 VREE y col., 1.971
Cannabidiorcol o cannabidiorsinol	CBD-C_1	H	CH_3	H	VREE y col., 1.972
Éter metílico del cannabidiol	EM-CBD-C_5	H	C_5H_{11}	CH_3	SHOYAMA y col., 1.972
Éter metílico del ácido cannabidiólico	EM-A CBD-C_5	COOH	C_5H_{11}	CH_3	SHOYAMA y col., 1.972

TABLA II - D

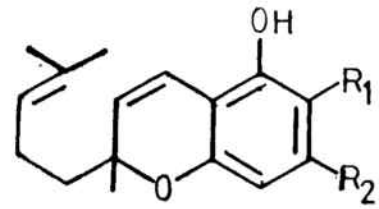
CANNABINOL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	R_3	AUTORES
Ácido cannabinólico	A CBN-C_5	H	COOH	C_5H_{11}	MECHOULAM Y GAONI, 1.965
Cannabinol	CBN-C_5	H	H	C_5H_{11}	WOOD y col., 1.899 CAHN, 1.930
Butil cannabinol	CBN-C_4	H	H	C_4H_9	HARVEY, 1.976
Cannabivarol o cannabivarinol	CBN-C_3	H	H	C_3H_7	MERKUS, 1.971
Cannabiorcol o cannabiorsinol	CBN-C_1	H	H	CH_3	VREE y col., 1.972
Éter metílico del cannabinol	EM-CBN-C_5	CH_3	H	C_5H_{11}	BERCHT y col., 1.973

TABLA II - E

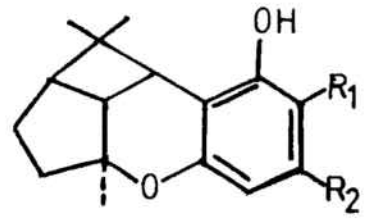
CANNABINOCROMENO Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	AUTORES
Ácido cannabinocroménico	A CBC-C_5	COOH	C_5H_{11}	SHOYAMA y col., 1.968
Ácido cannabicromevarólico	A CBC-C_3	COOH	C_3H_7	SHOYAMA y col., 1.977
Cannabicromeno	CBC-C_5	H	C_5H_{11}	CLAUSEN y col., 1.966 GAONI Y MECHOULAM, 1.966
Cannabicromevarol	CBC-C_3	H	C_3H_7	VREE y col., 1.972 ZEEUW y col., 1.973

TABLA II - F

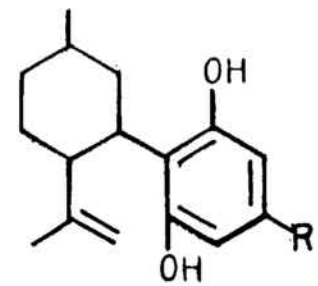
CANNABICICLOL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	AUTORES
Ácido cannabiciclólico	A CBL-C_5	COOH	C_5H_{11}	SHOYAMA y col., 1.972
Cannabiciclol	CBL-C_5	H	C_5H_{11}	KORTE Y SIEPER, 1.964 MECHOULAM Y GAONI, 1.967
Cannabiciclovarol	CBL-C_3	H	C_3H_7	VREE y col., 1.972 DE ZEEUW y col., 1.973

TABLA II - G

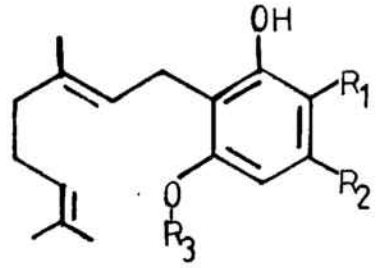
CANNABINODIOL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R	AUTORES
Cannabinodiol	CBN D-C_5	C_5H_{11}	Van GINNEKEN y col., 1.972
Cannabinodivarol	CBN D-C_3	C_3H_7	LOUSBERG y col., 1.977

TABLA II - H

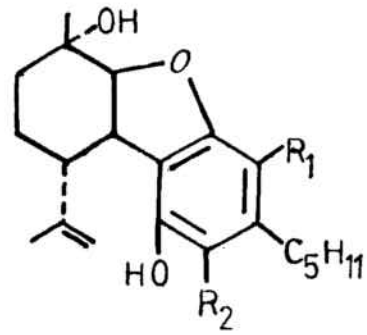
CANNABIGEROL Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	R_3	AUTORES
Ácido cannabigerólico	A CBG-C_5	COOH	C_5H_{11}	H	MECHOULAM Y GAONI, 1.965
Ácido cannabigerovarólico	A CBG-C_3	COOH	C_3H_7	H	SHOYAMA y col., 1.977
Cannabigerol	CBG-C_5	H	C_5H_{11}	H	GAONI Y MECHOULAM, 1.964
Cannabigerovarol	CBG-C_3	H	C_3H_7	H	SHOYAMA y col., 1.975
Éter metílico del ácido cannabigerólico	EM-A CBG-C_5	COOH	C_5H_{11}	CH_3	SHOYAMA y col., 1.970
Éter metílico del cannabigerol	EM-CBG-C_5	H	C_5H_{11}	CH_3	YAMOUCHI y col., 1.968
Éter metílico del cannabigerovarol	EM-CBG-C_3	H	C_3H_7	CH_3	CLAUSSEN y col., 1.966

TABLA II - I

CANNABIELSOINA Y DERIVADOS



NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	ABREVIACION	R_1	R_2	AUTORES
Ácido cannabielsoico A	A CBE - A	COOH	H	SHANI Y MECHOULAM, 1.970
Ácido cannabielsoico B	A CBE - B	H	COOH	SHANI Y MECHOULAM, 1.974
Cannabielsoina	CBE	H	H	BERCHT y col., 1.973

TABLA II - J

CANNABITRIOL Y DERIVADOS

NOMBRE DE LOS CANNABINOIDES	R_1	R_2	AUTORES
(-) Cannabitriol	H	OH	OBATA Y ISHIKAWA, 1.966 CHAN y col., 1.976
(+) Cannabitriol	H	OH	EISOHLY y col., 1.977
9,10-dihidroxi-$\Delta^{6a(10a)}$-tetrahidrocannabinol	H	OH	EISOHLY y col., 1.978
8,9-dihidroxi-$\Delta^{6a(10a)}$-tetrahidrocannabinol	OH	H	EISOHLY y col., 1.978
(-)-10-etoxi-9-hidroxi-$\Delta^{6a(10a)}$-tetrahidrocannabinol	H	OEt	EISOHLY y col., 1.977
Éster tetrahidrocannabitriólico del ácido cannabidiólico	CBD | CO | O	H	Von SPULAK y col., 1.968

TABLA II - K

OTROS CANNABINOIDES

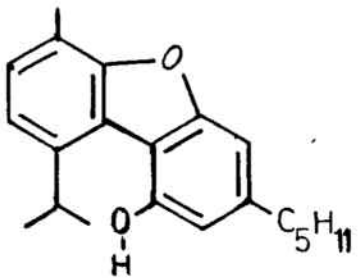
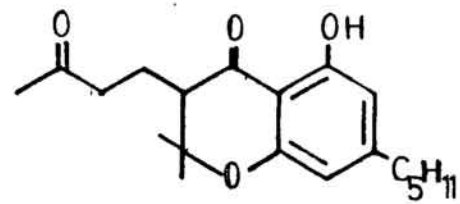
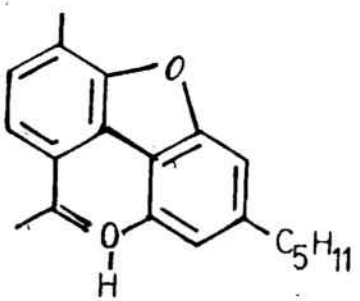
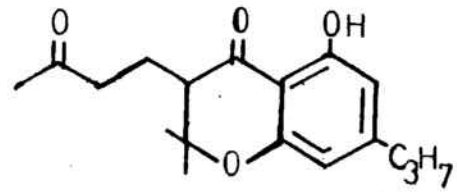
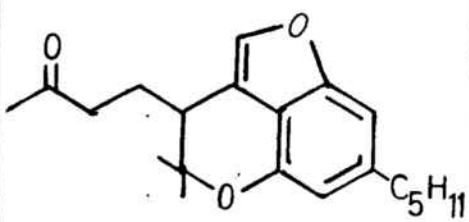
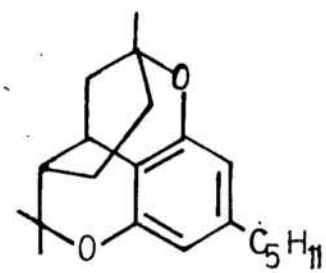
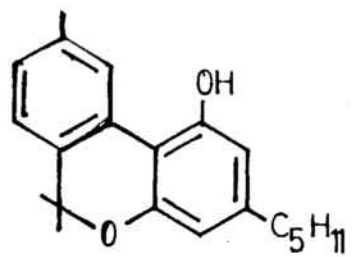
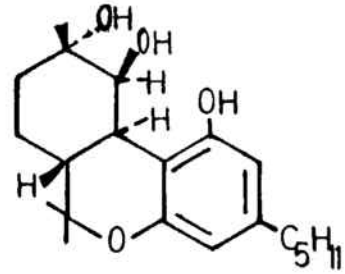
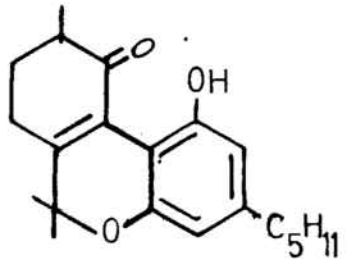
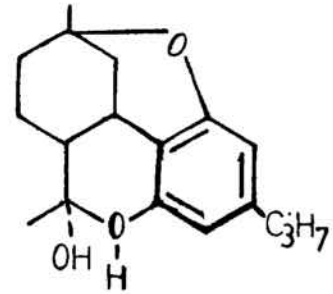
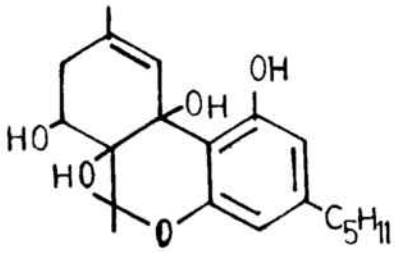
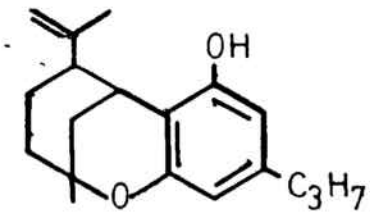
ESTRUCTURA	NOMBRE Y AUTORES	ESTRUCTURA	NOMBRE Y AUTORES
	**CANNABIFURANO** (CBF) FIECHTL Y SPITELLER (1.975)		CANNABICROMANONA-C_5 (CBCN-C_5) FIECHTL Y SPITELLER (1.975)
	DEHIDROCANNABIFURANO (DCBF) FIECHTL Y SPITELLER (1.975)		CANNABICROMANONA-C_3 (CBCN-C_3) GROTE Y SPITELLER (1.978)
	CANNABICUMARONA GROTE Y SPITELLER (1.978)		CANNABICITRANO (CBT) BERCHT y col., (1.974)

TABLA II - L

OTROS CANNABINOIDES

ESTRUCTURA	NOMBRE Y AUTORES	ESTRUCTURA	NOMBRE Y AUTORES
	Δ^9-(6a,10a,CIS)-TETRA-HIDROCANNABINOL FIECHTL Y SPITELLER (1.975)		CANNABIRIPSOL BOEREN y col. (1.979)
	10-OXO-$\Delta^{6a(10a)}$-TETRA-HIDROCANNABINOL FIECHTL I SPITELLER (1.975)		CANNABIGLENDOL TURNER Y MOLE (1.981)
	6a,7,10a-TRIHIDROXI-Δ^9-TETRAHIDROCANNABINOL BOEREN y col. (1.979)		Δ^7-CIS-ISO-TETRA-HIDROCANNABIVARINA SHOYAMA y col. (1.981)

2.1.2.- Biogénesis

Se conocen estudios sobre la biogénesis de los cannabinoides desde 1,942 por Simonsen y Todd. Son muchos los autores que desde entonces han intentado dilucidar los pasos que llevan a la formación de dichos compuestos, entre los que cabría destacar a Adams, Farmilo (1,961), Ni (1.962), Mechoulam y Gaoni (1.968, 1.967, 1.970), Cardillo (1.973), Shoyama (1.975), Nishioka (1.970, 1.975), y por último Faubert Maunder, Turner y Hadley.

Pero a pesar de ello todavía quedan puntos oscuros en los que sería necesario investigar más a fondo.

Se admite definitivamente que la base de partida es la condensación del pirofosfato de geranilo y el ácido olivetólico, o sus homólogos de cadena butílica, propílica o metílica.

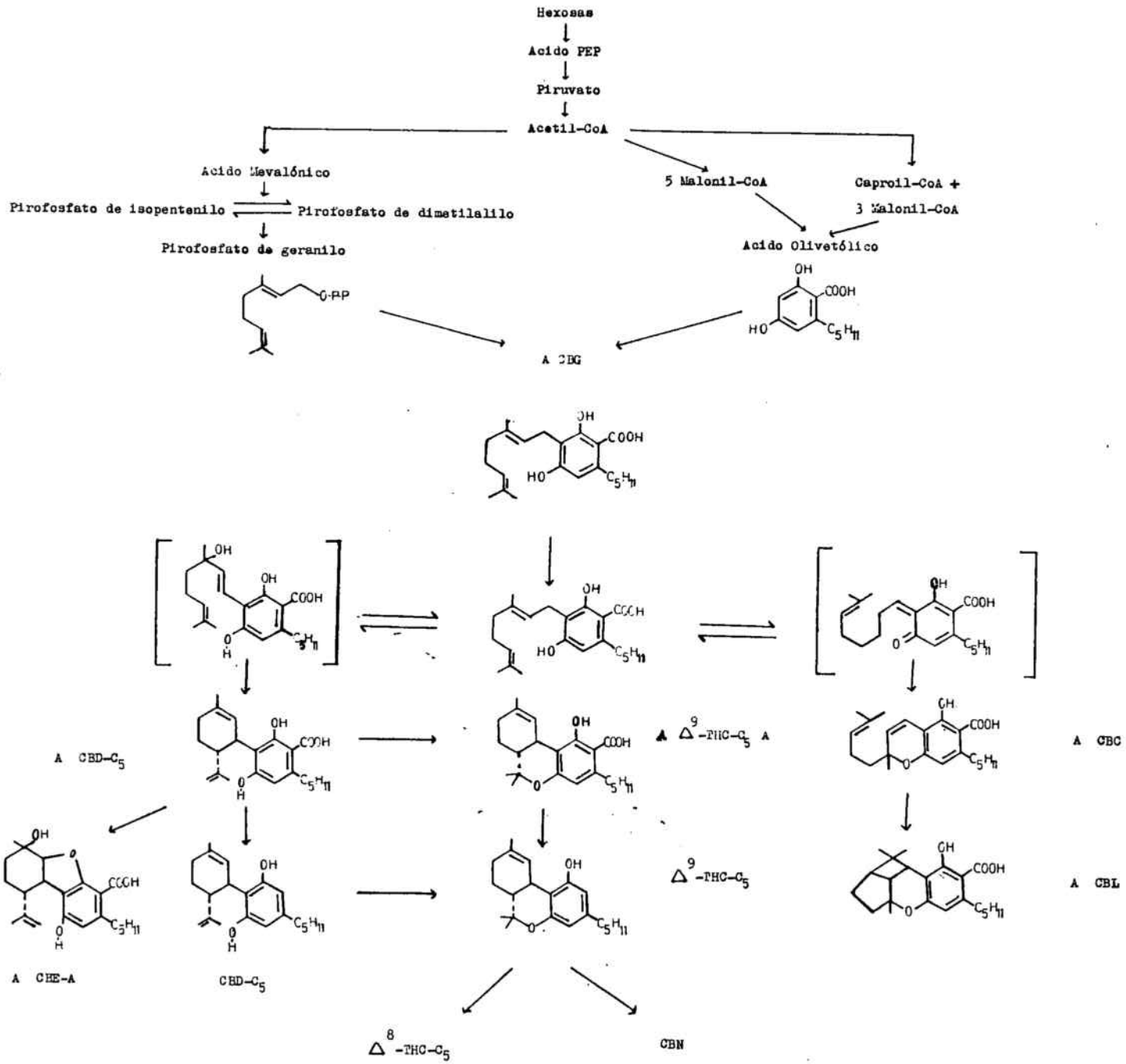
El compuesto formado es el ácido cannabigerólico (ACBG).

Este se hidroxila a ácido hidroxicannabigerólico. Este, mediante formas intermedias aún no aisladas, y por posterior hidrogenación seguida de ciclación, da lugar al ácido cannabidiólico (ACBD), al ácido Δ-tetrahidrocannabinólico (ATHC) y al ácido cannabielsioco-A (ACBE-A) por una parte, y al ácido cannabinocroménico (ACBC) y cannabiciclólico (ACBL) por otra.

En la desecación de la planta, las formas ácidas sufren una descarboxilación, quedando en forma de CBD, Δ-THC-C_5, CBC y CBL. Igual ocurre al exponerlas al calor, por ejemplo al ser fumado el Cannabis (MIKES Y WASER 1.971) (Tabla III).

El Δ^9-THC-C puede provenir del AΔ^9-THC-C_5 por pérdida de CO_2, o bien del CBD por ciclación. Además el Δ^9-THC-C_5 en parte se isomeriza a Δ^8-THC-C_5, o bien se hidrogena y da lugar al CBN (primer cannabinoide natural obtenido en estado puro).

TABLA III



(FOURNIER 1.979)

3.- CLASIFICACION QUIMICA DEL CAÑAMO

Como se ha citado ya con anterioridad, la variabilidad del cáñamo en función de las condiciones ambientales da lugar a una dualidad bien manifiesta:

En países templados, el cáñamo se utiliza por sus fibras y sus semillas, mientras que en países cálidos se emplea por su alto contenido en resina alucinógena (BOUCHER 1.974).

Es por estas diferencias cuali y cuantitativas que ostenta la planta en cuanto a presencia de cannabinoides, por lo que se han desarrollado diversos criterios para establecer una clasificación química.

Los constituyentes que sirven de base para realizar esta clasificación son los compuestos fenólicos no azotados como el CBN, Δ^9-THC, Δ^9-THCV, Δ^8-THC, CBL, CBC, CBD, CBD-C , CBG y CBGM.

En 1.979, Fournier y Paris establecen como punto de partida y sobre 3.500 pies de cáñamo monoico cultivado en Francia, la diferenciación entre cáñamo para papel y cáñamo para resina según su concentración en Δ^9-THC y CBD, y la relación $\alpha = \Delta^9$-THC / CBD :

	Δ^9-THC	CBD	α
Cáñamo para papel	$\leq 0,5\%$	$> 0,5\%$	< 1
Cáñamo para resina	$> 0,5\%$	$< 0,5\%$	> 1

Con anterioridad, Grlic (1.968) clasificó el Cannabis en cinco categorías según cual fuera el cannabinoide predominante:

- Inmaduro ..... predominio del ACBD.
- Intermedio ..... predominio del CBD.
- Maduro ..... predominio del Δ^9-THC.
- Hipermaduro ..... predominio del CBN.
- Alterado ..... sufre descomposición de sus cannabinoides.

Waler estableció como criterio para diferenciar los distintos fenotipos la relación:

$$\text{Fenotipo} = \frac{\Delta^9\text{-THC} + \text{CBN}}{\text{CBD}}$$

Pero fueron Fetterman y col. en 1.971 quienes marcaron los valores que debía tener este cociente para realizar la diferenciación, concluyendo que si el valor era superior a la unidad se trataba de cáñamo tipo droga, y si era inferior a dicha unidad, de cáñamo tipo fibra.

Aunque Small y Beckstead en 1.973 observaron las relaciones entre Δ^9-THC, CBD y CBGM, y según ello definieron cuatro fenotipos (Fig. 8):

	Δ^9-THC	CBD	CBGM
I	$> 0{,}3\%$	$< 0{,}5\%$	——
II	$> 0{,}3\%$	$> 0{,}5\%$	——
III	$< 0{,}3\%$	$> 0{,}5\%$	——
IV	——	——	$\simeq 0{,}05\%$

en 1.978 Fournier y Paris consideraron que era suficiente hallar los contenidos relativos de Δ^9-THC y CBD. Es así como establecieron la clasificación que nos ha servido para encabezar

esta lista.

En un principio el sistema de Waller y el de Small y Beckstead demostraron ser de gran utilidad, pero al irse perfeccionando las técnicas analíticas y hallándose cannabinoides nuevos donde antes sólo se creía que existían unos pocos, estas clasificaciones se muestran incompletas.

Por todo ello, Turner y col. en 1.973, proponen un sistema basado en el método de Waller, pero mucho más completo. Se fundamenta en la relación:

$$\text{Fenotipo} = \frac{\Delta^1\text{-THC} + \Delta^9\text{-THCV} + \Delta^8\text{-THC} + \text{CBN}}{\text{CBD} + \text{CBV} + \text{CBC} + \text{CBG} + \text{CBGM}}$$

Fournier y Paris en 1.979 y 1.980 realizaron un profundo estudio sobre pies de cáñamo monoico. Viendo que todos era morfológicamente semejantes, y que únicamente se individualizaban por su contenido en cannabinoides, empezaron a clasificarlos en quimiotipos.

Desde un principio distinguieron dos (Fig. 8):

- Quimiotipo I:

$$\Delta^9\text{-THC} = 0{,}34\%$$
$$\text{CBD} = 0{,}63\%$$
$$\alpha = 0{,}54$$

- Quimiotipo II:

$$\Delta^9\text{-THC} = 0{,}026\%$$
$$\text{CBD} = 0{,}86\%$$
$$\alpha = 0{,}03$$

En cada uno de estos quimiotipos observaron una relación lineal del tipo $\Delta^9\text{-THC} = a\text{CBD} + b$.

Así:

- Quimiotipo I :

$$\Delta^9\text{-THC} = 0{,}50\,\text{CBD} - 0{,}05$$

$$r = 0{,}80$$

$$t = 3{,}77$$

$$\Delta^9\text{-THC} > 0{,}1\%$$

$$\bar{x} = 0{,}30\%$$

- Quimiotipo II :

$$\Delta^9\text{-THC} = 0{,}04\,\text{CBD} - 0{,}01$$

$$r = 0{,}66$$

$$t = 4{,}65$$

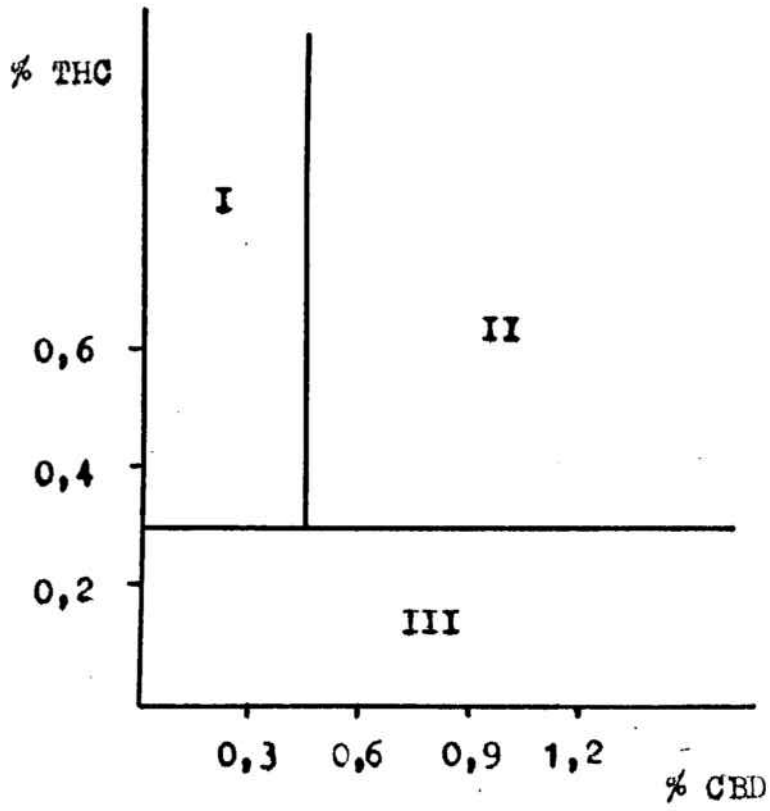
$$\Delta^9\text{-THC} < 0{,}1\%$$

$$\bar{x} = 0{,}03\%$$

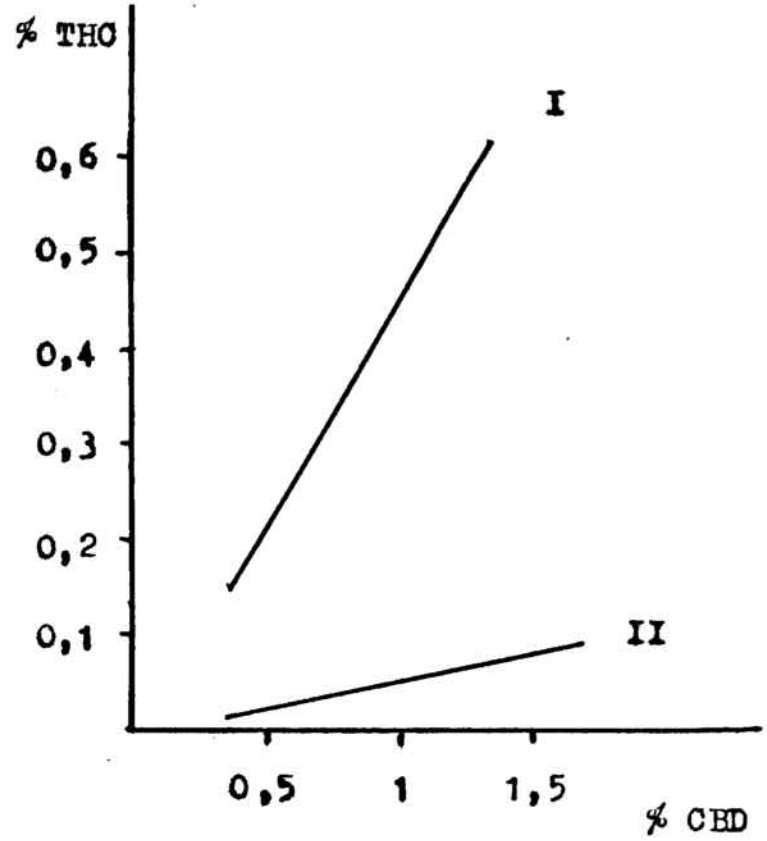
Siendo r el coeficiente de correlación y $t = r / \sqrt{1-r} \cdot \sqrt{n-2}$.

Estos quimiotipos se corresponden a los fenotipos II y III definidos por Small y Beckstead (Fig. 8).

FIGURA 8



Representación gráfica de la clasificación en tres fenotipos de pies femeninos de Cannabis según Small y Beckstead.



Representación gráfica de los dos quimiotipos definidos por Fournier y Paris en plantas monoicas de Cannabis.

4.- IMPORTANCIA DEL CANNABIS EN LA INDUSTRIA ACTUAL

El cáñamo es una planta que se adapta con facilidad a los cambios climáticos. Ello explica que desde la antigüedad haya sido cultivado profusamente en la mayoría de las zonas templadas y tropicales.

Las modificaciones fenotípicas que conllevan las diferentes condiciones ambientales hacen que los objetivos que persigue su cultivo varíen según la latitud:

- En zonas templadas su utilización está en función de sus fibras celulósicas de aplicación textil (cuerdas, paños, velas), aunque la aparición de fibras sintéticas ha disminuído su interés en este campo. Se usan también las semillas oleaginosas, por su contenido en aceite secante, y los cañamones por su utilización como cebo para la pesca y como alimento de aves y roedores.

Pero de principal interés es su aplicación a la industria papelera. La fabricación de pasta para papel supone una cuidadosa mezcla de plantas ricas en fibras (cáñamo, lino) y otras fibras celulósicas no lignificadas, junto con numerosos coadyuvantes.

El 95% del cáñamo cultivado con este fin se usa para la fabricación de papel de cigarrillo.

El 5% servirá para la confección de "papel de biblia", condensadores eléctricos, bolsas de infusión, etcétera (FOURNIER Y col. 1.976).

El empleo de técnicas especializadas ha permitido obtener unas variedades de Cannabis sativa L. de elevado rendimiento en fibras, tales como la de "Kentucky" y "Kymington".

Actualmente se tiende a la producción de plantas monoicas, pues ello permite un cultivo mecanizado y por tanto más cómodo, ya que no presenta el inconveniente de tener que recolectar primero las plantas masculinas que maduran con anterioridad y luego las femeninas. Además es totalmente aprovechable para la elaboración de pasta de papel.

- En zonas tropicales, subtropicales e incluso de clima mediterráneo (Méjico, Colombia, Líbano, picos bajos del Himalaya, montañas del Rif), el Cannabis se cultiva por sus propiedades psicotropas, o bien surge expontáneamente, ya que el clima cálido y seco que caracteriza estas regiones presupone un factor importante que da lugar a numerosas variedades ricas en resina.

5.- PRESENTACIONES COMERCIALES COMO DROGA

La generalización en el mundo del uso del cáñamo como estupefaciente es una realidad a partir de la primera mitad del siglo XX, ya sea fumado o en forma de bebida o comida.

Cada país podría decirse que está especializado en una técnica elaboradora, obteniéndose así gran número de preparaciones distintas que a la vez reciben nombres diferentes según dicho país, y cuyo contenido en principios activos (esencialmente THC) es muy variable.

Sirva de ilustración las once formas recogidas en la tabla IV , de las más de 267 que componen la escala internacional de estupefacientes publicada por la Organización de las Naciones Unidas (BRAUT-BOUCHER 1.978).

El "Bhang" se obtiene por desecación de las hojas tanto de pies masculinos como femeninos de cáñamo recogidas cuando todavía están verdes. Comercialmente se presenta en masas comprimidas que contienen además flores, brácteas y aquenios.

Suele ser fumado o bien se ingiere el producto que resulta de su maceración en agua. Pero la forma más peligrosa es como electuario, en unión de azúcar, especies aromáticas, Acónito, Datura, Hyoscyamo e incluso opio.

Es propio de la India.

También allí se elabora el llamado "Ganja", formada por las sumidades florales y fructíferas femeninas.

Se presenta en tres formas: aplanado, redondo o pulverulento.

Suele consumirse fumado en una pipa especial, y en oca-

siones mezclado con tabaco.

La forma india más activa es el "Charas", constituído únicamente por la resina en bruto de Cannabis. Es lo mismo que el "Chira" africano.

Ambos se alteran rápidamente bajo la influencia de la luz, el calor o la humedad.

La planta, en su totalidad, es de habitual consumo en Arabia e Irán a pesar de que su actividad es variable.

Pero la forma más activa es la que en el mercado de contrabando se denomina "Haschich líquido", que es un extracto concentrado de la resina.

Se prepara así mismo un extracto graso hirviendo la resina con mantequilla y agua, hasta evaporación de ésta. La mantequilla se satura de resina, sirviendo de este modo de base aromática.

También se utiliza la resina mezclada con azúcar, chocolate, pistachos, almendras, miel y otras sustancias, para preparar conservas, bombones, etc.

Por último se incluye dentro de los aceites para perfume, cuya inhalación provoca vértigos y aturdimiento.

TABLA IV

PAIS	NOMBRE	COMPOSICION	ACTIVIDAD
India	Bhang	hojas más sumidades florales fem. y mas.	poco activo
	Ganja	sumidades femeninas	activo
	Charas	resina en bruto	muy activo
Arabia Irán	Cannabis	planta entera	poco activa
Or. medio Egipto	Haschich	resina más sumidades florales	activo
Túnez	Takrouri	hojas más sumidades florales	actividad variable
Argelia Marruecos	Kif	hojas más sumidades florales	actividad variable
Africa sur	Dagga	hojas más sumidades florales	actividad variable
U.S.A. Canadá Méjico	Marihuana	hojas más sumidades florales	actividad variable
Mercados ilegales	Haschich líquido	extracto concentrado de resina	"muy activo"

6.- ASPECTOS FARMACOCINETICOS Y FARMACODINAMICOS DEL CANNABIS

Los cannabinoides se absorben rápidamente por el pulmón o en el tracto gastro-intestinal. Su vida media es de unas 60 horas, con metabolitos que son excretados por orina y heces durante más de 8 días (LEMBERGER y col. 1.971).

Esta prolongada vida media se debe a varios factores, sobre todo al fenómeno de "reciclaje" a través de la circulación entero-hepática (KLAUSNER Y DINGUE 1.971)(TURK, DEWEY Y HARRIS 1.977), y también a su fijación en los tejidos del cuerpo que se deriva de su alta liposolubilidad. Se han encontrado niveles persistentes en el cerebro, pulmones e hígado durante incluso 7 días (ALFONSO IBAÑEZ 1.979).

Estudios en ratas y perros mostraron la evidencia de que el Δ^9-THC es captado preferentemente en las células neuronales, en contrapartida con las células gliales.

La metabolización de los cannabinoides, que tiene lugar en el sistema microsomal, ha sido objeto de estudio de numerosos investigadores como Agurell, Patton, Mechoulam, Wall y Truitt. La vía principal es por hidroxilación en distintas posiciones (Tabla V) (YISAK y col. 1.978) (LEIGHTY 1.979).

También se han hallado acetil- y glucurónido-derivados, así como otros conjugados de estructura no establecida.

Un metabolito inmediato del Δ^9-THC es el 11-OH-Δ^9THC, así como el 11-OH-Δ^8-THC lo es del Δ^8-THC. Ambos productos metabólicos poseen efectos psicoactivos. Se postuló que para tener actividad farmacológica los componentes principales debían hidroxilarse en posición 11. Pero numerosos estudios posteriores demostraron la inexactitud de esta hipótesis. Si bien los

11-OH-metabolitos juegan un papel principal en los efectos psicoactivos de los cannabinoides, se cree que ellos por si mismos no pueden ser los únicos responsables de la actividad global.

En el área farmacológica, los mecanismos de acción no están todavía esclarecidos. Se ha hallado un notable grado de tolerancia al Δ^{9}-THC y otros cannabinoides psicoactivos en experiencias realizadas en palomos, pero ocurre todo lo contrario en casi todas las demás especies, como es el caso del hombre (CORMIER Y REID 1.979) (LAPORTE 1.976) (GOODMAN 1.976).

Se ha observado una tolerancia cruzada de los cannabinoides psicoactivos entre si. El cannabidiol psicofarmacológicamente inactivo, puede disminuir ciertos efectos del THC, como los psicomotores, y contrariamente puede también potenciar sus efectos sedantes si se halla en cantidad suficiente (AGURELL).

No se aprecia dependencia física, aunque sí alteración de la conducta unos días después de la supresión de la droga, únicamente en palomos, no en monos (KAYMAKÇALAN 1.981)(TAYLOR 1.978).

Se cree que las sustancias neurotransmisoras (acetilcolina, norepinefrina, dopamina, 5-hidroxitriptamina) no están involucradas en la acción de los cannabinoides sobre el sistema nervioso central.

La toxicidad aguda del Δ^{8} y Δ^{9}-THC es baja.

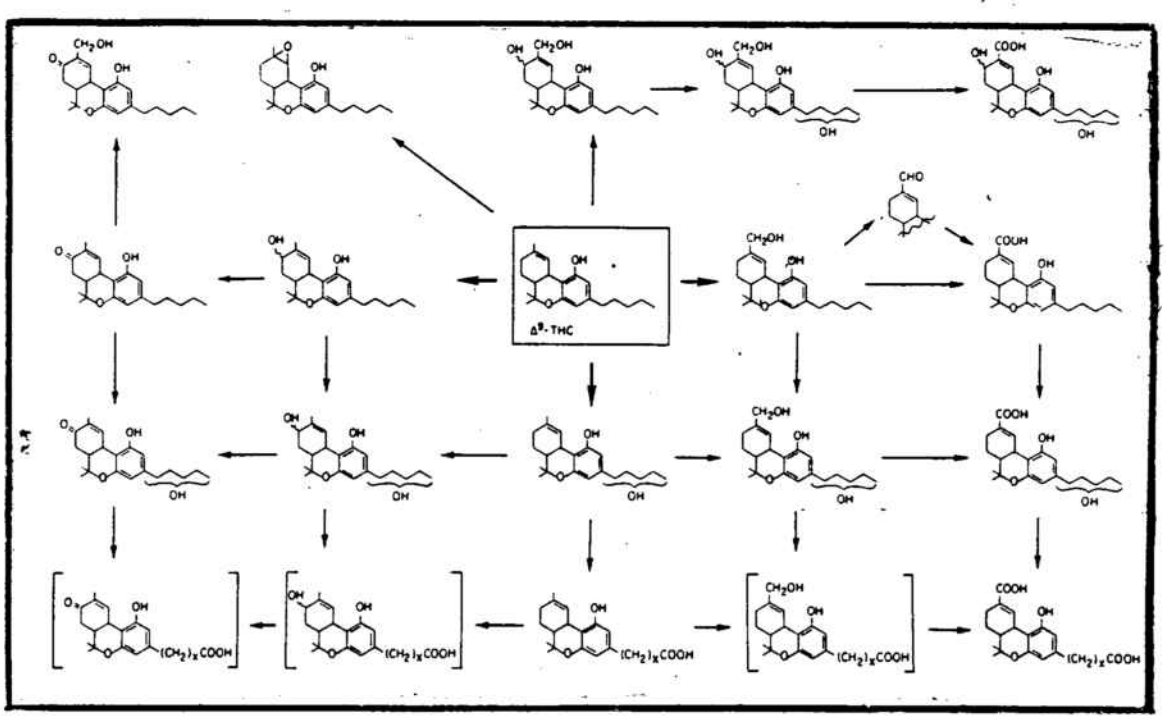
La toxicidad crónica aumenta con el uso persistente de la droga, causando un estado de hiperexcitabilidad.

Con dosis altas es frecuente la aparición de fetos raquíticos o reabsorbidos. Pero dosis normales tienen un efecto poco apreciable en la reproducción, y no muestran teratogénesis, aunque parece ser que algún fenol no cannabinoídico del grupo espiro-indánico tiene actividad estrogénica (WIRTH 1.981).

El THC presenta importantes interacciones farmacodinámicas con otras sustancias, como la anfetamina. La administración conjunta de ambos fármacos da lugar a una potenciación de los efectos cardiovasculares de ésta última, e induce la aparición de movimientos estereotipados. Así mismo se manifiestan síntomas subjetivos, antagonizándose los efectos psicomotores.

En un consumidor crónico de Cannabis pueden tener lugar fenómenos de inducción enzimática, que disminuirían la eficacia de otros fármacos usados terapeúticamente (CAMI 1.981, PATON 1.975).

TABLA V



Las estructuras entre paréntesis no han sido todavía completamente aisladas y/o caracterizadas (LIPTON y col. 1.982).

7.- APLICACIONES TERAPEUTICAS DEL CAÑAMO

La significación terapeútica del cáñamo es conocida desde hace ya más de 4.500 años, cuando los chinos lo consideraban como la verdadera panacea. Las propiedades que se le han atribuído a lo largo de la historia son innumerables, lo cual reafirma el concepto que tenía de él la cultura del Kou-Kin-i-Tong.

Pero ya que el empleo del Cannabis en la antigüedad ha sido objeto de numerosas publicaciones, nos ceñiremos a su posible utilización en la terapeútica actual.

Bajo este punto de vista, los efectos de mayor interés son los siguientes (HOLLISTER, KARLER, NEUMEYER, FOURNIER, etc.):

Psicotropo ..... Δ^9-THC-C_5 , Δ^9-THC-C_3 , Δ^8-THC-C_5

Antiemético ..... Δ^9-THC-C_5

Anticonvulsivante ..... CBD-C_5 , CBN (depresor central).

Antiinflamatorio ..... CBD-C_5 , CBN

Antibiótico ..... CBD-C_5 , CBG-C_5

Bactericida ..... CBDA-C_5

Prop. inmunológicas ..... CBN

Gran relevancia tuvieron los estudios realizados por Burstein y col. (1.972 - 1.973), Crowshaw y Hardman (1.974), Green y Podos (1.974), Hepler y Franck (1.971) y Franck y col. (1.972) sobre su acción en el glaucoma. Los cannabinoides, y en especial el Δ^9-THC-C_5 , inhiben la síntesis de prostaglandinas, lo que da lugar consecuentemente a un efecto hipotensor. El Δ^9-THC-C_5 actúa como antagonista del ácido araquidónico, que es el responsable de la hipertensión intraocular por aumento de la biosíntesis de prostaglandinas.

Su efecto inhibidor de la síntesis de prostaglandinas endógenas explica también la acción antiedematosa y antiinflamatoria del cáñamo (SOFIA y col. 1.973).

Vachon y Tashkin observaron que Δ^9-THC-C_5 provocaba una broncodilatación, aliviando por tanto los síntomas asmáticos.

El mecanismo por el que tiene lugar la relajación del músculo liso bronquial no está completamente conocido, pero todo hace suponer que es distinto del de los fármacos antiasmáticos de frecuente uso terapeútico.

Con dosis que no provoquen aumento de la frecuencia cardíaca ni síntomas psicotropos, se ha visto que el Δ^9-THC-C_5 tiene un efecto inicial idéntico al isoproterenol, pero con la ventaja de que su acción se prolonga más en el tiempo.

Parece ser también que en el futuro el Δ^9-THC-C_5 se revelará como fármaco irremplazable en el tratamiento del vómito producido por la administración de drogas antineoplásicas, si se consiguen eliminar sus efectos secundarios (MECHOULAM Y LANDER 1.980) (SWEET, LUCAS Y LASZLO 1.980).

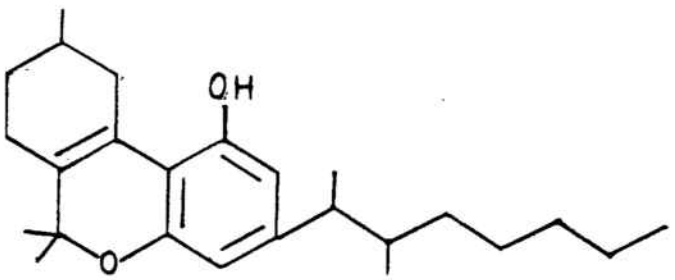
Otra importante aplicación es en la terapia anticomicial. Pero en este caso el responsable es el CBD, cannabinoide que de por si no tiene efectos psicotropos. Fue Carlini quien comprobó que una dosis diaria de 200 - 300 mg. de CBD durante varios meses provocaba la desaparición de los ataques típicos del gran mal, o al menos disminuía su frecuencia.

En la actualidad se han iniciado gran número de programas de experimentación encaminados a la síntesis de cannabinoides en los que uno de sus efectos se vea potenciado, y en cambio no presente acciones secundarias. Para ello se recurre a la

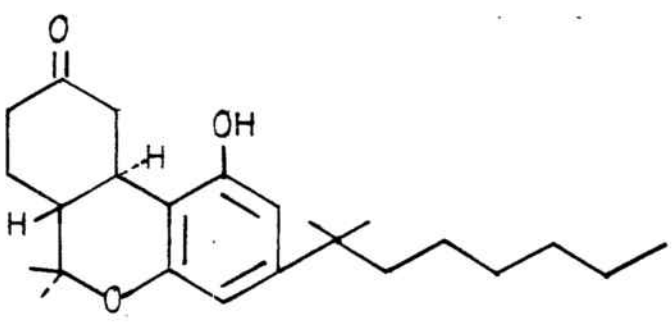
molécula base natural y se intenta realizar una hemisíntesis sobre ella (MEITZER y col. 1.981).

De este modo se han sintetizado dos importantes compuestos:

A/ $\Delta^{6a(10a)}$-1',2'-dimetilheptiltetrahidrocannabinol (DMHP), de potente actividad cardiovascular (SIDELL y col. 1.973, LEMBERGER y col. 1.974).



B/ Nabilona, de acción antiemética, relajante y sedante a dosis de 1 mg. (LEMBERGER Y ROWE 1.975, RUBIN y col. 1.977). A dosis superiores a 2,5 mg. aparecen ya algunos efectos colaterales, aunque al cabo de unos días se instaura una tolerancia de estos efectos, mostrándose igualmente efectiva como relajante (MECHOULAM Y LANDER 1.980).



El principal inconveniente que presenta el uso del Cannabis es su amplio espectro de acción, ya que en clínica se requieren drogas cada vez más específicas.

Si no fuera por ello su utilización en el glaucoma, asma, vómito, epilepsia y ansiedad estaría mundialmente aceptada.

8.- TECNICAS ANALITICAS APLICABLES A CANNABIS SATIVA L.

8.1.- Extracción de los cannabinoides

A través de todo el estudio histórico que se ha llevado a cabo sobre las propiedades físico-químicas de los cannabinoides, se ha demostrado su solubilidad en disolventes orgánicos como el benceno, etanol, hexano, pentano, éter, acetona, metanol y sobre todo éter de petróleo, aunque un trabajo realizado por Turner y Henry en 1.975 proclamó al cloroformo como el disolvente más eficaz para extraer dichos principios activos.

La extracción se realiza por varios métodos y a partir de plantas femeninas, tomando el quinto superior del tallo, correspondiente a unos 6 nudos aproximadamente, o bien el tercio superior, separando tallo y semillas, o por último a partir de las inflorescencias exclusivamente.

La metodología a seguir presenta muchas variedades:

A/ Según Turner y Henry (1.974):

La muestra de Cannabis se extrae a temperatura ambiente con cloroformo durante 1 hora. Luego se somete a evaporación al vacío, adicionando posteriormente una solución etanólica que contiene una cantidad conocida de androst-4-en-3,17-diona. Cada muestra se expone al cloroformo durante 75 minutos.

Pero pronto Parker y col. alegaron que el cannabidiol sintético es estable únicamente durante 8 días si se somete a la acción del cloroformo.

B/ Según Paris (1.971) y Fournier (1.979):

Se opera sobre 2 gr. del polvo obtenido del tercio supe-

rior de la planta, separando el tallo y las semillas. La extracción se lleva a cabo con 30 a 40 ml. de éter de petróleo (40 - 65ºC). Después de dejarlo 24 horas en contacto, y posteriormente en agitación duranta 1 hora, se filtra. El líquido filtrado se evapora a sequedad a baja temperatura y al vacío.

Se redisuelve el residuo en 10 ml. de éter de petróleo.

Puede practicarse una purificación durante la extracción, colocando la muestra en una columna de aluminio básico y lavando con una mezcla de benceno/éter de petróleo (punto de ebullición) para eliminar las grasas, y eluyendo con cloroformo-benceno a 40 - 65ºC.

Para el análisis cuantitativo y cualitativo por cromatografía de gases, 1 ml. de la primera solución étero-petrólica se evapora a sequedad. El residuo se disuelve con 2 ml. de una solución etanólica al 0,1% de androsten-3,17-diona.

C/ Según Braut-Boucher (1.978):

La extracción se realiza por inmersión de las partes aéreas de la planta en alcohol metílico a ebullición durante media hora. Se repite este proceso una segunda vez para que la extracción sea total.

El extracto metanólico se evapora al vacío y a temperatura inferior a 40ºC. Posteriormente se redisuelve con una mezcla hexano-benceno (2:8 V/V).

D/ Según Small (1.973):

1gr. de inflorescencias convenientemente desecadas se trituran en un mortero. Se añaden 10 ml. de hexano para espectroscopía, conteniendo 5 mg/ml. de metadona. Se mantiene en agita-

ción constante durante 15 minutos y se toma el sobrenadante procedente de una posterior centrifugación.

Puede sustituirse el hexano por metanol, ya que la metadona, que se emplea como patrón interno, es poco soluble en n-hexano.

El principal inconveniente de este método es que junto con los cannabinoides se extraen también las clorofilas y otros fitoconstituyentes.

Mediante un cuidadoso análisis objetivo de las distintas metodologías, se ha llegado a la determinación de utilizar en el presente trabajo el método que anteriormente usaron Valls (1.977) y Coll (1.982) en nuestro mismo departamento, y que podríamos resumir de la siguiente manera:

Partimos de 1 gr. de inflorescencia desecada. Se somete a maceración con 20 ml. de éter de petróleo, llevándolo simultáneamente a agitación durante 60 minutos. Filtramos a través de algodón y dejamos que se evapore completamente el solvente a temperatura ambiente. El resíduo obtenido se disuelve en 4 ml. de solución metanólica que contiene exactamente 5 mg./ml. de metadona. Se filtra de nuevo por algodón enrasando, por último, con metanol hasta 4 ml.

Pero el análisis cuantitativo no sería exacto si no tuviésemos en cuenta la humedad de la muestra.

Para la determinación de esta humedad se pueden seguir dos métodos:

A/ Desecación:

Método gravimétrico que se fundamenta en la pérdida de peso que experimenta el vegetal, en estufa a 103 ± 2ºC hasta la

obtención de peso constante.

B/ Dean - Stark:

Por formación de una mezcla azeotrópica con un solvente orgánico (xileno) y el agua de la muestra.

El método utilizado fue este último, obteniendo un valor medio del 11% en las muestras estudiadas.

8.2.- Análisis de los cannabinoides

8.2.1.- Análisis cualitativo por cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina reune las ventajas de la cromatografía en papel y la cromatografía en columna. Permite separaciones rápidas sobre distintos adsorbentes. La localización de las sustancias que componen la muestra a analizar, así como la cuantificación de las mismas puede realizarse sin excesivas dificultades.

La separación tiene lugar sobre una monocapa de material adsorbente que se halla extendido sobre una placa de vidrio u otro material rígido e inerte.

En el caso concreto de la identificación de los distintos cannabinoides que componen el extracto, la técnica que suele practicarse es la descrita por Paris (1.971, 1.973).

Se utilizan placas recubiertas de una fina capa de Kieselgel G o H, impregnado o no de cloroformo o DMF. Sobre ellas se depositan 5 µl. de extracto étero-petrólico problema y 2 µl. de solución etanólica al 1% de los controles (Δ^9-THC y CBD).

Para el desarrollo del cromatograma se utilizan dos sistemas de eluyentes:

- Hexano - dioxano (8:2 V/V).
- Hexano - éter (8:2 V/V).

Después de su observación a la luz ultravioleta, se revela por pulverización con una solución al 0,06% de azul sólido B (di-orto-amisidina tetrazotada por una solución de NO_2Na en el momento de usarse) en sosa normal.

Aparecen manchas rosadas, anaranjadas (CBD) y violetas

(Δ^9-THC).

También pueden utilizarse otros reveladores aunque son menos ventajosos.

Ejemplos:

- Anisaldehído - ácido sulfúrico.
- 1-nitroso-2-naftol (BRAUT-BOUCHER 1.978).

8.2.2.- Análisis cualitativo y cuantitativo por CGL

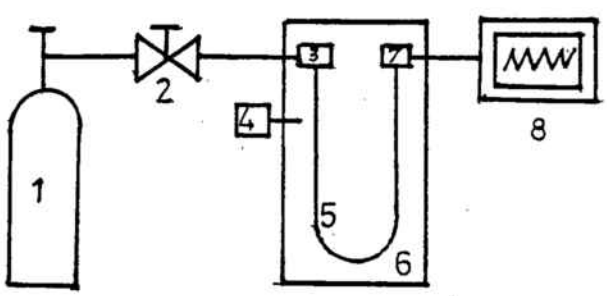
8.2.2.1.- CGL, fundamentos e instrumentación

La cromatografía gas-líquido (CGL) es una cromatografía de reparto en la que la muestra se ve arrastrada por un gas a lo largo de una columna, en la que se encuentra una fase estacionaria líquida adsorbida sobre un soporte inerte , que suele estar constituído por finas partículas sólidas.

Las distintas sustancias que componen la muestra deben ser fácilmente volatilizables y resistentes a la descomposición. Al pasar por la columna son retenidas con distinta intensidad por la fase estacionaria según sea su afinidad por la fase líquida y por la gaseosa.

En el registro aparecen una serie de picos correspondientes a cada una de estas sustancias. Por el tiempo que tarde en aparecer cada pico pueden identificarse los componentes de la muestra. El área comprendida debajo de cada pico nos permitirá conocer la concentración relativa de cada uno de ellos.

El instrumento empleado para efectuar esta CGL es el llamado cromatógrafo de gases, que consta de los siguientes elementos básicos: fuente de gas comprimido, regulador de flujo, inyector columna, horno y detector.



(DABRIO 1.979)

1.- Fuente de gas portador comprimido.

2.- Regulador de flujo.

3.- Sistema de inyección.

4.- Regulador de temperatura.

5.- Columna.

6.- Horno.

7.- Detector.

8.- Amplificador y registrador.

- Fuente de gas portador comprimido:

Suministra la fase móvil o gas portador , que debe ser inerte y térmicamente estable. Los más empleados son: hidrógeno, helio, nitrógeno y argón.

- La velocidad de flujo debe ser constante. Para ello se intercala un regulador de flujo, que consta de una válvula de membrana.

En este punto puede medirse la velocidad de flujo mediante un rotámetro o un caudalímetro capilar, pero el más utilizado es el caudalímetro de burbuja.

- El sistema de introducción de la muestra o inyector es un dispositivo cuyo objetivo es permitir la introducción de la muestra en la corriente de gas portador. Se halla a la entrada de la columna.

Los hay de distintos tipos, pero el más común es el inyector de líquidos, que permite también el empleo de sólidos y gases. Consta de una cámara calentada de modo independiente, con una membrana de caucho a través de la cual se introduce la muestra mediante una microjeringa. La temperatura a la que debe hallarse este inyector debe ser superior al punto de ebulli-

ción del componente menos volátil de la muestra.

El volumen de inyección oscila entre el 0,1 y 2 µl. generalmente (DABRIO 1.979).

- La columna:

Contiene la fase estacionaria. Es un tubo de vidrio o metal (acero inoxidable, cobre, latón, aluminio, etc.) de longitud variable entre 1 y 200 metros, y su diámetro interno puede ser de 0,1 a 50 mm. Cuanto más larga y estrecha es, mayor es su poder separador, aunque entonces aumenta el tiempo de retención, y por tanto se prolonga la duración del cromatograma.

Es la parte más importante del aparato ya que en ella se realiza la separación de la mezcla.

Según como se encuentre distribuída en ella la fase estacionaria, y el valor de la relación de fases de la misma (volumen fase móvil / volumen fase estacionaria), da lugar a muy diversos tipos de columnas.

Como soporte inerte se utiliza tierra de infusorios, aluminio, carbón activo, gel de sílice, etc., finamente dividido para presentar así mayor superficie. Pero la mayoría de ellos adsorben también numerosas sustancias indeseables, y por ello se envenenan con líquidos no volátiles.

La fase adsorbente líquida debe tener un punto de ebullición alto, o como mínimo 250ºC superior a la temperatura de trabajo. Debe ser relativamente inerte, poseer una viscosidad baja y por último ser capaz de disolver en parte las sustancias problema.

Se obtienen buenos resultados si se opera a una temperatura de columna unos 10 - 20ºC superior a la del punto de ebullición más alto de la muestra.

Pero si dicha muestra contiene compuestos de puntos de ebullición muy distintos debe trabajarse a temperatura programada. De este modo se logra una buena resolución, y unos picos de anchura casi constante.

- La columna debe estar situada en el interior de un horno que posee un regulador de temperatura.

- El detector es un dispositivo que permite medir una propiedad física del gas portador de manera constante, y que se modifica con la presencia de muy pequeñas concentraciones de la sustancia a analizar.

Está siempre ubicado a la salida de la columna.

Los detectores más corrientemente utilizados son los de conductividad térmica o catarómetros, los de ionización de llama por rayos γ o argón y los de captura electrónica.

La señal eléctrica enviada por el detector se amplifica, se mide y se registra, obteniendo lo que llamamos cromatograma (VALLS 1.978) (DABRIO 1.979).

8.2.2.2.- Metodología

Para el análisis cuantitativo de los cannabinoides por CGL se utiliza el método del patrón interno.

Este patrón interno se escoge de modo que su volumen o tiempo de retención sea diferente al de las sustancias a analizar, pero no muy dispar. No debe formar parte de la muestra problema.

Es muy frecuente el empleo como tal del oleato de metilo o la androsten-3,17-diona.

Pero en nuestro estudio el patrón utilizado ha sido el clorhidrato de dl metadona (6-dimetilamino-4,4-difenil-3-heptanona), recomendado por Lerner (1.969) a través del Comité de Estupefacientes de las Naciones Unidas. Tiene un tiempo de retención menor que el de los cannabinoides, y se identifica, así, con el primer pico de la representación cromatográfica.

La principal ventaja de esta sustancia reside en que de este modo el desarrollo cromatográfico puede obtenerse en un tiempo mínimo.

8.2.2.3.- Condiciones operatorias

En cuanto al cromatógrafo de gases utilizado, sus principales características, referidas siempre al empleo de metadona como patrón interno, son las siguientes:

- Marca: Carlo Erba.
- Modelo: Fractovap GV.
- Columna:
  . Material: Acero inoxidable.
  . Fase estacionaria: OV - 17 (feniletilsilicona), ligeramente polar. Es de uso muy general, tanto para sustancias apolares como para compuestos algo polares. Presenta, habitualmente, una buena selectividad para mezclas de tipo mixto.
  . Tasa de impregnación de la fese estacionaria: 3%.
  . Soporte: Chromosorb W. Su componente básico es tierra de diatomeas. Se trata de sílice hidratada microamorfa, muy porosa. Se calcina empleando como fundente carbonato sódico, consiguiendo la fusión parcial de los esqueletos, y dando lugar a un producto blanco de menor superficie específica que los soportes coloreados, aunque de actividad superficial residual menor (DABRIO 1.973).
  . Granulometría: 60/80 mallas.
  . Tratamiento de desactivación del soporte: Lavado ácido.
  . Longitud: 2 metros.
  . Diámetro exterior: 1/8 de pulgada (3,2 mm.).
- Gas portador: Helio.

- Velocidad de flujo del gas: 30 ml./min.
- Medidor de velocidad de flujo: Caudalímetro de burbuja.
- Sensibilidad: 1 x 64
- Volumen de muestra inyectada: 2 μl.
- Temperaturas:
  . Inyector: 275ºC.
  . Detector: 310ºC.
  . Columna: 250ºC.
- Detector: De ionización de llama o FID.

Una llama de hidrógeno y aire da lugar a una corriente de ionización muy débil. Esta corriente se debe a la presencia de iones H_3O^+ y trazas de NO^+ y NH_4^+ . Se establece al someter la llama a una diferencia de potencial. Cuando en esta llama aparece una sustancia extraña (nuevas especies iónicas) dará lugar a una variación en la corriente.

La presencia de una sustancia orgánica en la llama provoca un aumento de la corriente de ionización, si el compuesto tiene unidades C-H en su molécula. Se proponen varias hipótesis para explicar el origen de esta corriente, tales como la de la termoionización (SAUNDERS Y SATO) y la de la ionización química (CALCOTE y col., MAc WILLIAM).

El detector en si consta de dos partes fundamentales: el sistema para producir la llama adecuada, y la parte electrónica (fuente de tensión y amplificador).

- Registrador: W+W Recorder - 1100.
- Tiempos de retención respecto a la metadona: ·CBD = 2,5
  ·THC = 3,1

8.2.3.- Análisis estructural

Puede efectuarse de dos maneras:

A/ Por cromatografía en fase gaseosa acoplada a la espectrometría de masas.

B/ Por espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

9.- FOTOPERIODISMO

9.1.- Concepto

Ya en 1.852 Henfrey señaló que la distribución natural de las plantas podría deberse, en parte, a la diferencia que ostentan los días de verano en latitudes distintas.

Más tarde Tournois y Klebs, en 1.912 y 1.913 respectivamente, trabajaron sobre la inducción de la floración por iluminación con lámparas incandescentes, logrando buenos resultados.

Pero fue en 1.920 cuando Garner y Alland establecieron las bases de lo que hoy llamamos "fotoperiodismo". Sus investigaciones las llevaron a cabo sobre dos plantas, Nicotiana tabacum variedad Maryland mammoth y Glycine max. Ambas especies florecen fuera del tiempo estival, pero consiguieron que florecieran en verano reduciendo el período de iluminación diaria.

Posteriormente se extendió el estudio a muchas especies, y para varios tipos de respuesta, y se llegó a la conclusión de que el período diario de exposición a la luz y oscuridad regula distintos procesos del desarrollo del vegetal.

A este fenómeno se le denominó "fotoperiodismo", palabra compuesta de "φοτος" del griego "luz" y "περιοδος" del griego "duración del tiempo".

Se define como el control de una serie de procesos fisiológicos, entre los que está incluída la floración, por la alternancia de los períodos de luz y oscuridad en el ciclo diario de 24 horas (VICENTE 1.976).

Esta definición requiere ciertas precisiones. Se ha observado que la duración del período oscuro tiene mayor influencia que la duración del período de iluminación. La intensidad y composición de la luz también pueden variar la magnitud de la respuesta, así como la cantidad total de luz tiene a la vez un notable efecto sobre aquella.

A pesar de ésto, se acepta que cualquier respuesta que realiza la planta ante la duración y el orden de alternancias de períodos de luz y oscuridad puede denominarse "respuesta fotoperiódica" (DEVLIN 1.970).

Prácticamente se entiende como fotoperíodo o hemeroperíodo el tiempo de exposición lumínica diaria, y como nictiperíodo, la duración de la fase oscura diaria.

El período de 24 horas en el que el fotoperíodo y el nictiperíodo tienen la duración adecuada se conoce con el nombre de ciclo inductivo (BASTIN 1.970).

9.2.- Diversidad de respuestas al fotoperíodo

La respuesta al fotoperíodo más ampliamente estudiada es la floración en angiospermas. Las principales aportaciones se deben a Garner y Allard por sus trabajos en 1.920 y 1.923.

Pero también es interesante citar que el fotoperíodo ejerce notable influencia en otros muchos procesos, como los que se enumeran a continuación (SALISBURY 1.981):

1.- Germinación o capacidad germinativa:

Se ha observado que el fotoperíodo al cual se someten las plantas progenitoras, mientras se están formando las semillas, puede ejercer una notable influencia en la posterior germinación de éstas.

Cabría citar en este campo las experiencias llevadas a cabo por Mayer y Poljakoff-Mayber en 1.963, Vince-Prue en 1.975, Bhargava en 1.975, y por último Pourrat y Jacques en 1.975.

2.- Crecimiento y morfología de la planta:

La respuesta común al fotoperíodo es un aumento de la elongación del tallo si se somete la planta a días largos, dando individuos altos pero poco densos.

Las principales aportaciones en este aspecto se deben a Buttrose y Sedgley (1.978), Sharma y Nanda (1.976), Ewing y Wareing (1.978), Murti y Saha (1.975), Salisbury y Ross (1.978), Milford y Lenton (1.976), Tinus (1.976), y otros muchos.

3.- Formación y crecimiento de la raíz:

Este efecto ha sido estudiado por Vince-Prue (1.975), Bhella y Roberts (1.974), Barba y Pokorny (1.975), Inmuel

(1.978) y MacDowall (1.977).

La exposición de la planta madre a un determinado fotoperíodo siempre influye en la capacidad de los esquejes para formar raíces.

4.- Formación y desarrollo de los órganos de reserva:

Esta respuesta ha sido objeto de estudio de numerosos investigadores debido a su importancia en agricultura, entre los que podríamos señalar a Murti y col. (1.975, 1.977), Hammes y Nel (1.975), Lowe y col. (1.976), Heins y Wilkins (1.978), y Kedar y col. (1.975).

Parece ser que ciertos tubérculos se desarrollan con mayor rapidez bajo condiciones de día corto, mientras que la formación del bulbo en las cebollas se ve favorecida por días largos.

5.- Desarrollo de las flores:

Vince-Prue (1.975), Aung (1.976), Langton (1.977), Skrubis y Markakis (1.976), Shillo (1.976) y Cockshull (1.976), nos muestran como el requerimiento fotoperiódico para el desarrollo de las flores es muy diverso.

6.- Expresión del sexo:

La feminidad o masculinidad se ven promovidas por días largos o días cortos según la especie de que se trate (Schwabe 1.971, Hugel 1.976, Sedgley y Buttrose 1.978).

7.- Viabilidad de las semillas:

El fotoperíodo influye en la cantidad de planta capaz de producir semillas, y por tanto en el rendimiento de una cosecha (Thomas y Raper 1.976, Patterson 1.977, Allison y Daynard 1.979, Hamner 1.969).

8.- Abscisión, letargo y resistencia a las heladas:

La variabilidad de estas respuestas frente al fotoperíodo fue experimentada por Bentley y col. (1.975), Alvim (1.978), Young y Hanover (1.977), Johnson y Havis (1.977), y Christersson (1.978).

9.- Senescencia:

Se ha visto que la senescencia requiere el desarrollo de las flores y los frutos, pero también se ve favorecida por los días largos (Lachaud 1.976, Proebsting 1.976).

10.- Otros efectos:

Cambios en la densidad estomática (Herath y Ormrod 1.979), en el contenido en aceites esenciales (Lavigne y col. 1.979) y en la presencia de antocianos (Seibert 1.976).

Todos estos efectos y otros muchos son de interés en agricultura y tienen gran importancia en el ecosistema natural.

9.3.- Clasificación de las plantas según la influencia del fotoperíodo

La consideración ecológica de la floración muestra la necesidad de una clasificación ya inherente al propio comportamiento de los vegetales.

A pesar de que se ha visto que numerosos factores intervienen en el fenómeno, el esquema dado por Garner y Allard (1.920) sigue siendo el fundamento principal de la actual clasificación. Ellos consideraron tres grandes grupos (DEVLIN):

A/ Plantas de día corto (PDC) o microhémeras:

Si la longitud crítica del día no debe rebasar un máximo número de horas de iluminación.

B/ Plantas de día largo (PDL) o macrohémeras:

Si la longitud crítica del día debe ser superior a un mínimo determinado.

C/ Plantas de día neutro (PDN):

Indiferentes a la duración del fotoperíodo.

Puede verse que el factor más importante es la longitud crítica del día o fotoperíodo crítico, y no la diferencia en términos absolutos de la duración de los fotoperíodos en las PDL y las PDC.

El fotoperíodo crítico, según Hillman (1.969), se puede definir como el más corto de los días largos que impiden completamente la floración, o el más largo de los días cortos que provoca el 100% de la floración, siempre en PDC.

Aplicándolo a PDL, sería el más largo de los días cortos que previene toda floración, o el más corto de los días largos que provoca el 100% de floración.

Pero ello ha llevado a muchos errores. Así últimamente se considera como longitud crítica del día el fotoperíodo que permite el 50% de floración máxima.

De manera general, el fotoperíodo crítico en PDL corresponde al mínimo número de horas de luz diarias necesario para la floración. Por el contrario, en PDC se refiere al máximo de horas de luz diaria que puede recibir la planta para que ésta sea capaz de florecer.

De este modo un número determinado de horas puede inducir la floración en ambos tipos de vegetales si dicho número se halla por encima del mínimo y a la vez por debajo del máximo del fotoperíodo crítico en PDL y PDC respectivamente.

Cabe destacar la existencia de plantas que requieren secuencias de DL-DC, o bien DC-DL.

Son plantas de día intermedio (PDI), las que florecen si la duración del día no es demasiado corta ni demasiado larga.

Las plantas ambifotoperiódicas (PAF) son aquellas cuya floración es inducida tanto en días cortos como en días largos, pero se ve inhibida en períodos lumínicos diarios intermedios.

Se muestra a continuación la clasificación sobre la que se basan actualmente los fisiólogos para estudiar el comportamiento de una planta (SALISBURY 1.981) (BARCELÓ y col. 1.980):

PLANTAS DE DIA CORTO

1.- PDC cualitativas:

Amaranthus caudatus	Impatiens balsamine
Andropogon gerardi	Ipomea hederacea
Bryophyllum pinnatum	Kalanchoe blossfeldiana

Cattleya trianae
Coffea arabica
Chenopium rubrum
Glycine max var.Biloxi
Lenma perpusilla
Oryza sativa
Phaseolus lunatus
Xanthium strumarium

2.- PDC cualitativas a elevada temperatura, PDC cuantitativas a baja temperatura:

Fragaria X Ananassa

3.- PDC a elevada temperatura, PDN a baja temperatura:

Pharbitis nil
Nicotiana tabacum var. Maryland mammoth

4.- PDC a baja temperatura, PDN a elevada temperatura:

Cosmos sulphureus

5.- PDC a elevada temperatura, PDL a baja temperatura:

Euphorbia pulcherrima

6.- PDC cuantitativas:

Amaranthus graecizans
CANNABIS SATIVA var. Kentucky
Cosmos bipinnatus
Datura stramonium H (las plantas viejas son PDN)
Glycine max var. Mandell
Gossypium hirsutum
Helianthus annus
Saccharum spontaneum
Salvia splendens

7.- PDC cuantitativas favorecidas por bajas temperaturas de vernalización:

Allium cepa

8.- PDC cuantitativas a elevada temperatura, PDN a baja temperatura:

Zygocactus truncatus

PLANTAS DE DIA LARGO

9.- PDL cualitativas:

Agropyros smithii
Agrostis palustris
Alopecurus pratensis
Anethum graveolens
Avena sativa
var. primavera
Chrysantemum maximum
Dianthus superbus
Festuca eliator
Fuchsia hybrida
var. Lord Byron
Hyoscyamus niger
Lemna gibba
Melilotus alba
Mentha piperita var. Ceres
Nicotiana silvestris
Phleum pratense
Raphanus sativus
Rudbeckia hirta
Sedum spectabile
Spinaca olearacea
Trifolium pratense
var. English Montgomery

10.- PDL favorecidas por bajas temperaturas de varnalización:

Betta saccharifera
Bromus inermis
Hyoscyamus niger
Lolium temulentum
Oenothera suaveolens
Triticum aestivum

11.- PDL a baja temperatura,
PDL cuantitativas a elevada temperatura:

Beta vulgaris

12.- PDL a elevada temperatura, PDN a baja temperatura:

Cichorium intybus

13.- PDL a baja temperatura, PDN a elevada temperatura:

Rudbeckia bicolor

14.- PDL en las que la vernalización puede sustituir, al menos en parte, los requerimientos de día largo:

Silene armeria

15.- PDL cuantitativas:

Brassica campestris
Camellia japonica
Dianthus caryophyllus
Hordeum vulgare
Nicotiana tabacum var.Havana A
Nigella arvensis
Oenothera rosea
Triticum aestivum

16.- PDL cuantitativas favorecidas por bajas temperaturas de vernalización:

Digitalis purpurea
Secale cereale

17.- PDL cuantitativas a elevada temperatura,
PDN a baja temperatura:

Lactuca sativa

PLANTAS DE FOTOPERIODO DUAL

18.- PDL - C:

Aloe bulbifera

Bruophyllum tubiflorum

Cestrum aurantium

Cestrum nocturnum (a 23ºC, a >24ºC PDN)

Kalanchoe laxiflora

19.- PDC - L:

Echeveria harmsii

Scabiosa succisa

Trifolium repens

20.- PDC - L favorecidas por bajas temperaturas de vernalización:

Dactylis glomerata

Poa pratensis

(El día corto es necesario para la inducción y el día largo para el desarrollo de la inflorescencia).

21.- PDC - L, bajas temperaturas pueden sustituir el efecto de los días cortos y luego las plantas responden como PDL:

Campanula medium

PLANTAS DE DIA INTERMEDIO

22.- PDI:

Chenopium album

Coleus hybrida var. de otoño

Mikamia scandens

Parthenium argentatum

Saccharum spontaneum

Tephrosia candida

PLANTAS AMBIFOTOPERIODICAS

23.- PAF:

Chenopium rubrum ecotipo 62º 46' N a 25ºC (a 15-20ºC responde como PDI cuantitativa, y a 30ºC como PDL cuantitativa).

Madia elegans

Setaria verticillata

PLANTAS DE DIA NEUTRO

24.- PDN:

Calendula officinalis

Cucumis sativus

Euphorbia peplus

Fragaria vesca semperflorens

Gomphrina globosa

Gossipium hirsutum

Helianthus annuus

Helianthus tuberosus

Ilex aquifolium

Lunaria annua

Lycopersicon esculentum

Nicotiana tabacum

Phaseolus vulgaris

Pisum sativum

Poa annua

Zea mays

25.- PDN favorecidas por bajas temperaturas de vernalización:

Allium cepa

Daucus carota

9.4.- Respuestas cualitativas y cuantitativas

Todas las especies fotoperiódicamente sensibles pueden clasificarse de modo más amplio en cuantitativas (facultativas) y cualitativas (absolutas) en su respuesta al fotoperíodo (SALISBURY 1.981).

Son más frecuentes las especies cuantitativas. En ellas la floración, o el número de flores, es mayor si se someten a un fotoperíodo apropiado, pero también florecen bajo una longitud de día normal. Son ejemplos clásicos Hordeum vulgare (PDL) y Helianthus annuus (PDC).

Muchas plantas clasificadas como de día neutro han resultado tener una respuesta fotoperiódica cuantitativa, como ocurre con los tomates (Aung 1.976).

Las plantas macrohémeras cuantitativas más importantes son los cereales (Fairey y col. 1.975).

La mayoría de las especies se convierten en más cuantitativas y menos cualitativas en sus respuestas al envejecer.

Una respuesta cualitativa es una respuesta absoluta, la floración se producirá bajo la influencia del fotoperíodo adecuado, y sólo bajo éste. Ejemplos: Glycine max var. Biloxi (PDC), Hyoscyamus niger (PDL), etc.

Cannabis sativa L. es una típica microhémera cuantitativa.

9.5.- Interacción con la temperatura

El estudio extensivo del fotoperíodo en numerosas especies nos proporciona la evidencia suficiente para afirmar que, en general, la respuesta fotoperiódica puede fácilmente modificarse con la temperatura, aunque el fotoperíodo crítico se muestra resistente a los cambios de dicha temperatura.

En ciertos casos, un incremento o descenso de temperatura más allá de determinados límites sí provoca una extensión considerable del nictiperíodo crítico. Ello se explica por el efecto que se ejerce sobre la síntesis del estímulo floral.

Se ha observado que en muchas especies microhémeras la medida del tiempo es relativamente insensible a la temperatura, dentro de un amplio margen.

Es curioso remarcar que en muchos casos la floración se ve favorecida por una breve o prolongada exposición a temperaturas cercanas al punto de congelación (vernalización), aunque por lo general a la vernalización le sigue una respuesta cualitativa o cuantitativa al fotoperíodo.

Como ya se ha señalado, en contraste con el fotoperíodo crítico, la respuesta fotoperiódica propiamente dicha sí es sensible a los cambios de temperatura. Así podemos encontrar en la naturaleza todo tipo de combinaciones:

.PDC o PDL que se convierten en PDN a temperaturas superiores o inferiores.

.Respuestas cualitativas que pasan a ser cuantitativas, o viceversa, a determinadas temperaturas.

.PDL a cierta temperatura, y el opuesto a una temperatura mayor o menor.

.PDC que se convierten en PDL a una temperatura dada.

La más abundante es la respuesta de día neutro a una temperatura y una respuesta cuantitativa a otra.

Podría señalarse aquí el impacto de la temperatura a nivel del fitocromo debido al carácter enzimático de la reconversión, en la oscuridad, del P_{730} en P_{660} (SALISBURY 1.981) (VINCE-PRUE 1.980).

9.6.- Aspecto hormonal

La iniciación real de los primordios florales viene determinada por la longitud del nictiperíodo, mientras que el hemeroperíodo determina el número de primordios florales que se van a producir. En este último aspecto también influye indirectamente la intensidad de la luz, por su efecto regulador sobre la cantidad de azúcares que afluyen a las regiones meristemáticas.

Vemos como la eficiencia del fotoperíodo es notablemente menor en ausencia de CO_2. De ello puede deducirse que la capacidad de producir flores se halla afectada, de alguna manera, por los sustratos metabólicos elaborados en la fotosíntesis.

Pero además la intensidad de la luz ejerce una influencia directa, ya que afecta la síntesis de algún estímulo floral.

Por otro lado la sensibilidad al fotoperíodo viene determinada por el número de fotoperíodos necesarios para inducir la floración.

Se ha comprobado que aunque una planta sea cultivada en condiciones desfavorables en cuanto a la exposición a la luz, florecerá si se le somete a un único fotoperíodo favorable, a pesar de que luego vuelva a exponerse a las condiciones iniciales. Pero esta floración tardará un tiempo en manifestarse. Se observa pues, que entre la aplicación del estímulo y la aparición de los esbozos florales transcurre un tiempo determinado. Esta inducción fotoperiódica se denomina "after--effect", y denota el carácter de un proceso hormonal (WAREING Y PHILLIPS 1.978).

Se ha visto con las experiencias de Hamner y Bonner (1.938), que la respuesta de la planta a la longitud del día también depende de las condiciones a las que se sometan las hojas, aunque esta respuesta tenga lugar en el ápice meristemático. Ello induce a pensar que bajo condiciones fotoperiódicas favorables el estímulo floral se forma en las hojas, de donde es conducido hasta los meristemos.

Mediante injertos interespecíficos se ha llegado a la evidencia de la existencia de un mensajero químico u hormona específica, a lo que Chailakhyan, en 1.936, denominó florígeno.

Fruto también de estas experiencias son tres observaciones que nos revelan algo más de esta fitohormona (BASTIN 1.970).

A/ Las plantas manifiestan una máxima sensibilidad al fotoperíodo cuando son adultas, o como mínimo cuando han alcanzado un determinado desarrollo. Se precisa, pues, una cierta "madurez fisiológica".

B/ Aplicando frío, narcóticos, inhibidores, o ligaduras que supriman la floración, anteriormente inducida, se ha comprobado como el transporte de la hormona se realiza por el floema.

C/ Si se someten las plantas a un fotoperíodo desfavorable se frena la floración ya desencadenada, ya que el flujo de glúcidos producidos por las hojas, conducidos en sentido inverso por el floema, se enfrentaría al estímulo floral.

Se ha intentado extraer e identificar esta hormona, pero hasta la actualidad no ha sido posible, aunque sí se ha comprobado que es la misma para los distintos tipos de plantas.

El propio Chailakhyan estableció la hipótesis del florígeno como complejo binario constituído por giberelinas y antesinas. Las giberelinas determinarían la formación y crecimiento de los tallos florales anteriormente a la floración. Con el nombre de antesinas da entidad a unas hormonas que serían las responsables de la formación de los primordios florales, y asegurarían el paso a la segunda fase de la floración.

De este modo Chailakhyan deduce que las plantas de día largo dispondrían continuamente de antesinas, siendo las giberelinas las esenciales para la floración. Mientras que las plantas de día corto poseerían en todo momento antesinas, siendo las giberelinas las de influencia decisiva (DEVLIN).

Esta hipótesis se ve confirmada al observar que la floración tiene lugar, independientemente de si el fotoperíodo es inductivo o desfavorable, si injertamos una especie de día corto con otra de día largo, ya que de este modo hay una presencia simultánea de antesinas y giberelinas.

La implicación de las giberelinas ha sido ya ampliamente comprobada, pero la imposibilidad de la identificación química de las antesinas hace que esta interpretación reste aún oscura a los ojos de aquellos que se empeñan en buscar explicaciones distintas (NAYLOR 1.961) (WAREING Y PHILLIPS 1.978) (BARCELÓ 1.980).

9.7.- Receptor: Fitocromo

Para que la luz sea efectiva es necesario que ésta sea absorbida. En el campo de la investigación de las reacciones fotobiológicas todos los trabajos se consagran a localizar las longitudes de onda más efectivas, intentando establecer el espectro de absorción del proceso que se estudia.

Aplicándolo al fotoperíodo, se observó que todos los espectros coincidían en lo esencial, de lo que se dedujo que el receptor de las longitudes de onda efectivas era común a todas las especies vegetales.

Las longitudes de onda más eficaces, ya sea en la inducción o en la inhibición de la floración, se hallan a 660 nm. y 730 nm., la radiación roja y la infrarroja o rojo lejano.

Borthwitk (1.952) y Downs (1.956) descubrieron que la radiación infrarroja es capaz de inhibir el efecto de la luz roja. En el caso concreto de Xanthium strumarium (PDC), la luz de 660 nm. ejerce un efecto máximo de inhibición de la floración. Xanthium, como PDC, requiere un nictiperíodo largo. Si interrumpimos esta oscuridad con un flash de luz roja (660 nm.) la floración queda inhibida. Pero si un breve destello de radiación infrarroja se aplica inmediatamente después de la luz roja, sí tiene lugar la floración. Si la radiación infrarroja es seguida de luz roja de nuevo, volverá a quedar inhibida. Queda demostrado así que la radiación aplicada en último término determinará la respuesta de la planta.

Se postuló la presencia de un pigmento que pudiera existir en dos formas, una que absorbiera a 660 nm. y otra a 730 nm. Las dos formas deberían ser interconvertibles. La forma

molecular P_{660} se transformaría por acción de la luz roja en la forma P_{730}, la cual por efecto del infrarrojo (o más lentamente en la oscuridad por vía enzimática) volvería a la forma P_{660}, sufriendo una destrucción parcial a lo largo de la transformación.

Esta teoría, hasta entonces hipotética, se vio confirmada en 1.958, cuando Beltsville y col. lograron aislar el pigmento de un extracto vegetal mediante técnicas especiales capaces de detectar cualquier cambio en la absorción posterior a la exposición a la radiación roja o infrarroja (WAREING Y PHILLIPS).

Ulteriores purificaciones de los extractos mostraron que este pigmento era de naturaleza proteica.

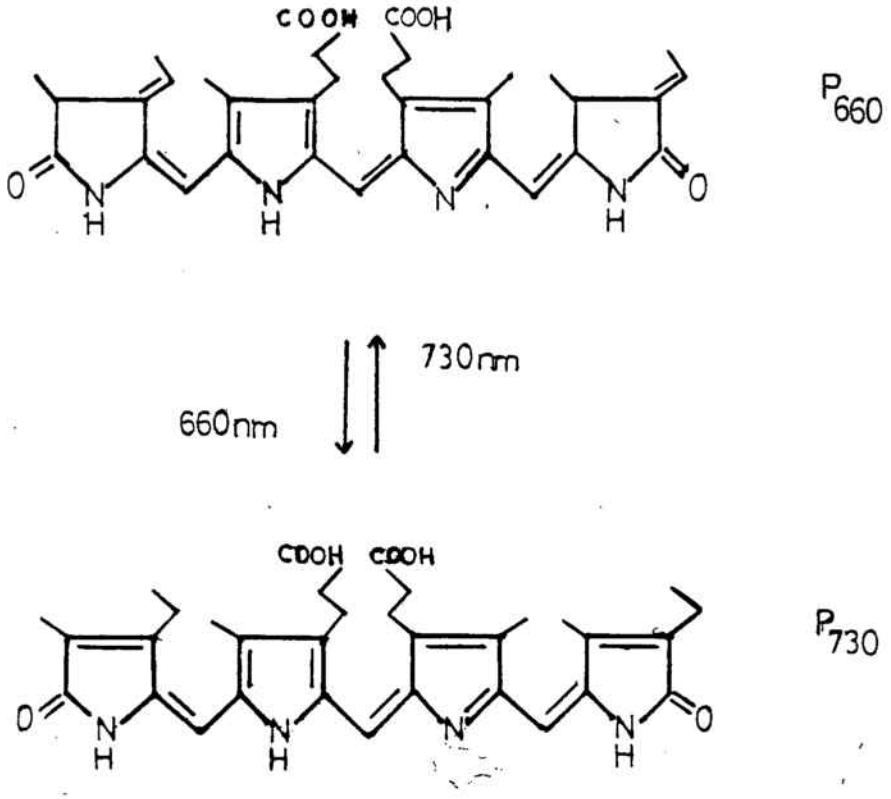
Se le denominó fitocromo.

Como proteína, su función en la planta podría ser enzimática. Se observó que al igual que otros muchos otros enzimas, constaba de una parte proteica y otra no proteica.

La parte proteica es una glucoproteína (3,5% de glúcidos) de peso molecular 120.000 o 240.000 según las experiencias. Ello indica la existencia de dos cadenas, o bien la posibilidad de una hidrólisis en el proceso de aislamiento. Esta proteína precipita a 11S, con dos fracciones a 5S y 8,5S. Sus aminoácidos terminales son el glutámico y el aspártico.

Sin embargo es la parte no proteica (el cromóforo) la que experimenta los cambios reversibles en respuesta a la radiación roja o infrarroja.

Se ha visto que este cromóforo es una ficocianina, emparentada con los ácidos biliares y compuesta por cuatro grupos pirrólicos de cadena abierta.



La luz blanca que llega a la tierra es una mezcla de radiaciones de distintas longitudes de onda. En ella la proporción de luz roja y luz infrarroja es variable. Tomemos como ejemplo un día del mes de Julio: mientras que a las 12 horas del mediodía el cociente, luz roja / luz infrarroja, alcanza un valor próximo a 2, a las 8.30 horas de la tarde es de 0,8.

Vemos así como durante el día es predominante la radiación roja a 660 nm., y por tanto va acumulándose P_{730}. Al caer la tarde la mayor proporción de luz infrarroja a 730 nm. hace que parte del P_{730} pase a P_{660}. Durante la noche, y mediante procesos enzimáticos, el P_{730} se convierte en P_{660} de manera total (HENDRICKS 1.964).

Se creyó que esa pequeña caída del P_{730} al anochecer sería la que señalaría a la planta el inicio del período oscuro, o bien sería una determinada relación, luz roja / luz infrarroja, la responsable de este fenómeno. Pero posteriores experiencias demostraron lo erróneo de esta hipótesis.

Al observarse que en PDC un pequeño destello de luz roja, que interrumpiera el nictiperíodo, provocaba la iniciación de la floración, y que en PDL este destello debía ser de luz infrarroja, se generalizó lo siguiente:

A/ La forma P_{730} en el período oscuro estimula la floración en las PDL, y la inhibe en las PDC.

B/ Se vio la necesidad para ambos tipos de plantas de un período lumínico en que claramente se forma y actúa el P_{730}.

C/ La sensibilidad de la planta al P_{730} es variable a lo largo del ciclo diario.

Actualmente existe la creencia de que durante el período crítico nocturno, en PDL el P_{730} activaría en las hojas a los genes responsables de la síntesis del florígeno, y éste, al llegar a los meristemos activaría los genes responsables de la iniciación floral. Sin embargo, en PDC un determinado nivel constante de P_{730} en el período oscuro reprimiría dichos genes. Es por ello que se necesitan noches largas para que tenga lugar la reversión enzimática de P_{730} a P_{660}. Cuando el nivel de P_{730} es suficientemente bajo se produce la desrepresión genética, y puede tener lugar la floración.

Pero junto a esta teoría coexiste la hipótesis de que el mecanismo de acción del fitocromo sea a nivel de permeabilidad

de membrana. Este concepto se sustenta en el hecho de que la luz roja y la infrarroja provocan una acción rápida y reversible en la carga superficial y en el potencial bioeléctrico de las raíces.

Por ejemplo, Kandeler halló que el litio inhibía la floración y el ADP la favorecía en ciertas PDL, mientras que en algunas PDC la floración era inducida por el litio en días largos, e inhibida por el ADP.

Tanada demostró que el K^+ y el ADP eran cofactores de la regulación que el fitocromo ejercía sobre el potencial de membrana, mientras Kandeler considera el litio como antagonista del K^+ en este fenómeno.

El Mn^{++} y el Mg^{++}, y en ciertas especies el Ca^{++}, son también cofactores del fitocromo en su acción sobre el potencial de membrana, lo que explica el que determinadas PDC puedan florecer en días largos en presencia de cobre, hierro y de agentes quelantes, que actuarían compitiendo o quelando el Mn^{++} el Mg^{++} o el Ca^{++} (EVANS 1.971).

Actuando de una manera u otra, lo más probable es que el P_{730} controle el flujo relativo de sustratos, y por tanto esté implicado en la floración (BARCELÓ 1.980).

9.8.- Cambios que se inducen en el metabolismo foliar

Se ha asociado con la longitud del día ciertos cambios cualitativos y cuantitativos en los componentes de la hoja, aunque sólo algunos afectan directamente a la floración, como es la variación en el contenido de giberelinas.

Ello, evidentemente, puede influir en el contenido de cannabinoides, que depende del momento en que se produzca la floración (EVANS 1.971).

9.8.1.- Cambios bioquímicos

9.8.1.1.- Metabolismo primario: RNA y proteínas

.-. RNA:

Hacia el año 1.970 se observó que las variaciones en la síntesis de RNA podían ser un elemento esencial en la inducción de la floración y también en la de las hojas, como mínimo en plantas microhémeras.

En experiencias en el género Pharbitis se ha visto que el transporte del estímulo floral no se ve afectado por la presencia o ausencia de luz, pero la variación en el RNA "mensajero" puede estar relacionada con su síntesis.

Observando el efecto de inhibidores de la inducción floral cuya síntesis requiere RNA, se ha visto que en macrohémeras la síntesis de RNA no es un factor esencial de inducción.

.-. PROTEINAS:

Oota y Umemura hallaron durante el período de inducción un componente proteico en cotiledones de Pharbitis que tenía evidente influencia en dicha inducción, pero que no siempre era eliminado al interrumpirse el período de oscuridad con un flash de luz.

En Xanthium (PDC), la inducción de las hojas se ve claramente inhibida por p-fluorofenilalanina y cicloheximida. Aunque estos compuestos son inhibidores típicos de la síntesis proteica, también pueden bloquear otros sistemas que sean los responsables verdaderos de la inhibición de la inducción.

9.8.1.2.- Metabolismo secundario: Esteroides y sustancias responsables del crecimiento

.-. ESTEROIDES:

Varias experiencias han demostrado que la inducción en PDL y PDC puede ser inhibida por el tris (2-dietilaminoetil) fosfato, que actúa bloqueando la síntesis de esteroides.

En cambio la floración se acelera si se aplican esteroides, como es el caso del geranilisovaleriato en plantas Arabidopsis. Además la administración de estrógenos da lugar a un aumento de los niveles de giberelinas endógenas y de auxina, implicadas, como se sabe, en el desarrollo de los vegetales.

.-. SUSTANCIAS RESPONSABLES DEL CRECIMIENTO:

El nivel de giberelinas endógenas en las hojas suele ser mayor en días largos, tanto en macrohémeras como en microhémeras. La interrupción de la oscuridad con un rápido flash luminoso también produce una elevación de este nivel.

El contenido de giberelinas en hojas y capullos se halla altamente influenciado por la fase de desarrollo reproductivo en que se encuentre el vegetal. Así las modificaciones de contenido de estas hormonas puede ser tanto una consecuencia de la inducción como una causa de ésta.

Los niveles de auxina también son mayores en días largos. Sin embargo, las citokininas se hallan en mayor proporción en días cortos, y su administración puede inducir la floración de microhémeras en días largos.

El ácido abscísico es más abundante en días cortos. Se transloca con facilidad, y se cree que es un componente del estímulo floral en PDC, o del inhibidor en PDL.

9.8.2.- Cambios fisiológicos: Respiración y fotosíntesis

Según Aksenova, Konstantinova y Nikitino, la respiración se halla más acoplada, y la estructura mitocondrial más difusa, en los períodos de luz que en los de oscuridad. Las reacciones oscuras promotoras en PDC e inhibidoras en PDL, dependen de la fosforilación oxidativa.

La inducción fotoperiódica en muchas PDL se ve incrementada con la intensidad y la duración de la iluminación, y también con la administración de asimilados. Mediante experiencias con DCMU [3(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea] (inhibidor de la inducción de días largos) se ha llegado a la conclusión de que únicamente la inducción de días largos depende de la la fotofosforilación.

Bajo ciertas condiciones, la inducción en PDC puede incrementarse si se administran azúcares suplementarios, y en cambio disminuye bajo otras. Posiblemente se deba a la reducción en los niveles de aminoácidos (EVANS 1.971).

9.9.- Aplicación a la mejora fenotípica de C. sativa L.

El objetivo principal de este trabajo ha consistido en ver la influencia que ejerce el fotoperíodo en el contenido de los principios alucinógenos más importantes del C. sativa L., el Cannabidiol y el Tetrahidrocannabinol.

Considerando el cáñamo como fuente de "marihuana" nos vemos en la necesidad de analizar ambos cannabinoides, pues como es sabido aunque sólo sea el THC el que posee propiedades alucinógenas, al fumar, que es la manera más habitual de consumo, los ácidos cannabinólicos se descarboxilan y las elevadas temperaturas provocan el paso de CBD a THC (MIKES Y WASER 1.971).

Así pues, en el terreno toxicológico incurriríamos en un error si valorásemos una muestra de dicha droga únicamente por su contenido en THC, sin tener en cuenta el de CBD.

Pero el interés que mueve al Departamento de Farmacognosia y Farmacodinamia de la Facultad de Farmacia de Barcelona al estudio del Cannabis se centra en otro campo. El fin es obtener variedades de cáñamo de fibras fuertes y resistentes de aplicación en la industria textil y papelera. Para que la producción y el rendimiento sean adecuados son necesarios extensos cultivos. Pero el servicio de Control de Estupefacientes y Psicotropos de la Dirección General de Farmacia y Medicamentos establece que si el contenido en THC del vegetal es superior al 0'5% tiene actividad farmacológica y su cultivo es ilegal. Si es inferior al 0'5% lo considera cultivo industrial. Es éste último nuestro caso, pero aún así este servicio de Control pone unos límites de producción tanto más estrechos cuanto mayor sea la riqueza en THC (siempre menor al 0'5%) (ADZET 1.977).

Por tanto, nuestro estudio se encamina hacia la obtención de individuos con fibras adecuadas y mínima riqueza en cannabinoides, pero centrándonos en el THC.

Hemos visto como el fotoperíodo ejerce una influencia notable en la floración. Ya que la resina se obtiene de las inflorescencias femeninas, se creyó que era muy probable que el fotoperíodo al que fuera sometido el vegetal hiciera variar el contenido en cannabinoides de esta resina. Para comprobarlo se procedió del siguiente modo:

Se partió de determinadas variedades ricas en fibras y con un bajo contenido en cannabinoides, adaptadas ya al clima del delta del Ebro, y de distintos quimiotipos:

Quimiotipo II :	Dioico 123	5 Familias
Quimiotipo I :	Dioico 461	1 Familia
	Dioico 458	1 Familia
	Dioico 405	1 Familia
Quimiotipo III:	Dioico 461	1 Familia
	Dioico 458	1 Familia
Híbrido :	F_1 461	4 Familias

Se procedió a sembrar las semillas en campos separados y a intervalos de aproximadamente quince días. Las fechas de siembra fueron:

30 - Abril - 1.981
18 - Mayo - 1.981
28 - Mayo - 1.981
11 - Junio - 1.981
25 - Junio - 1.981
10 - Julio - 1.981
23 - Julio - 1.981

A pesar de la diferencia entre la primera y última siembra, la floración tuvo lugar siempre entre el mes de Julio y Agosto, haciéndose notar aquí ya la presión ejercida por el fotoperíodo provocando dicha floración en una misma época, sea cual sea la fecha en que se sembró (siempre dentro de un intervalo determinado).

El desarrollo vegetativo del Cannabis se detiene al florecer, así cuanto más tarde en hacerlo mayor será la altura y el grosor que alcance.

De este modo podemos deducir la conveniencia de sembrar el cáñamo textil tan pronto como las heladas tardías de la zona lo permitan, aproximadamente a finales de Abril, con el fin de obtener individuos óptimos para la utilización de sus fibras.

En cuanto al contenido en cannabinoides se hicieron los correspondientes análisis, obteniéndose los resultados que se indican en el apartado siguiente.

9.9.1.- Resultados

Quimiotipo II : Dioico 123

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
30-Abril-81	1	0,49	indicios
	2	0,67	indicios
	3	0,17	indicios
	4	0,16	indicios
	5	0,94	indicios
	6	0,81	indicios
	7	0,14	indicios
	8	0,71	indicios
	9	0,44	indicios
	10	0,75	indicios
	11	1,20	indicios
	12	0,14	indicios
	13	0,34	indicios
	14	1,03	indicios
	15	0,69	indicios
	16	1,30	indicios
	17	0,97	indicios
	18	1,43	indicios
	19	0,85	indicios
	20	0,52	indicios

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
18-Mayo-81	1	0,69	indicios
	2	0,61	indicios
	3	0,34	indicios
	4	0,97	indicios
	5	0,69	indicios
	6	0,06	indicios
	7	1,19	indicios
	8	0,89	indicios
	9	0,21	indicios
	10	0,76	indicios
	11	1,02	indicios
	12	0,31	indicios
	13	1,01	indicios
	14	0,77	indicios
	15	0,76	indicios
	16	0,69	indicios
	17	1,03	indicios
	18	1,00	indicios
	19	0,78	indicios
	20	1,11	indicios
	21	0,90	indicios
	22	0,69	indicios
	23	1,29	indicios
	24	1,76	indicios
	25	1,21	indicios

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
28-Mayo-81	1	0,78	indicios
	2	0,47	indicios
	3	0,60	indicios
	4	0,72	indicios
	5	0,94	indicios
	6	0,56	indicios
	7	0,97	indicios
	8	0,60	indicios
	9	0,70	indicios
	10	0,58	indicios
	11	0,61	indicios
	12	1,15	indicios
	13	0,77	indicios
	14	0,83	indicios
	15	0,51	indicios
	16	0,61	indicios
	17	0,96	indicios
	18	0,74	indicios
	19	1,01	indicios
	20	0,71	indicios
	21	0,63	indicios
	22	0,92	indicios
	23	1,20	0,04
	24	1,50	0,05
	25	1,37	indicios

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
11-Junio-81	1	0,31	indicios
	2	0,83	indicios
	3	0,82	indicios
	4	0,55	indicios
	5	0,37	indicios
	6	0,36	indicios
	7	0,54	indicios
	8	0,43	indicios
	9	1,30	indicios
	10	0,73	indicios
	11	0,53	indicios
	12	0,72	indicios
	13	0,23	indicios
	14	0,85	indicios
	15	0,88	indicios
	16	1,10	indicios
	17	0,42	indicios
	18	0,42	indicios
	19	0,34	indicios
	20	0,34	indicios
	21	0,93	indicios
	22	1,31	indicios
	23	1,53	indicios
	24	0,88	indicios
	25	1,67	indicios

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
25-Junio-81	1	0,62	indicios
	2	0,85	0,05
	3	1,12	indicios
	4	0,51	indicios
	5	0,48	indicios
	6	0,57	indicios
	7	0,96	indicios
	8	1,04	indicios
	9	1,05	indicios
	10	0,62	indicios
	11	0,44	indicios
	12	0,79	indicios
	13	0,81	indicios
	14	0,88	indicios
	15	0,41	indicios
	16	0,40	indicios
	17	0,52	indicios
	18	0,39	0,03
	19	0,70	indicios
	20	0,86	indicios
	21	0,94	indicios
	22	1,49	0,03
	23	0,90	indicios

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
10-Julio-81	1	1,72	0,06
	2	1,19	indicios
	3	1,00	indicios
	4	0,90	indicios
	5	1,25	indicios
	6	0,54	indicios
	7	0,86	indicios
	8	0,54	indicios
	9	1,53	indicios
	10	0,77	indicios
	11	0,91	indicios
	12	1,18	indicios
	13	1,19	indicios
	14	0,84	indicios
	15	1,28	indicios
	16	1,76	indicios
	17	0,99	indicios
	18	0,91	indicios
	19	1,26	indicios
	20	0,61	indicios
	21	1,66	indicios
	22	2,67	indicios
	23	1,24	indicios
	24	1,45	0,07
	25	1,51	indicios

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
23-Julio-81	1	0,57	indicios
	2	1,28	indicios
	3	0,91	indicios
	4	0,88	indicios
	5	1,49	0,05
	6	0,39	0,25
	7	1,20	0,06
	8	0,68	indicios
	9	0,48	indicios
	10	0,83	indicios
	11	0,32	indicios
	12	0,25	indicios
	13	0,87	indicios
	14	0,42	indicios
	15	0,31	indicios
	16	0,36	indicios
	17	0,68	indicios
	18	0,73	0,03
	19	0,47	0,01
	20	1,25	0,04
	21	0,61	indicios
	22	1,61	indicios
	23	1,66	0,04
	24	1,59	indicios

Quimiotipo I : Dioico 461, 458 y 405

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
30-Abril-81	1	0,23	0,16
	2	0,22	0,27
	3	0,31	0,20
	4	0,16	0,10
	5	0,31	0,18
	6	0,69	0,54
	7	0,50	0,04
	8	0,71	0,03
18-Mayo-81	1	indicios	1,09
	2	0,04	1,03
	3	0,63	0,04
	4	0,99	1,17
	5	0,64	0,40
	6	1,03	0,04
	7	0,52	0,45
	8	1,11	0,03
	9	1,42	0,06
	10	0,33	0,33

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
28-Mayo-81	1	0,64	0,39
	2	1,20	0,05
	3	0,60	0,48
	4	0,03	0,96
	5	0,73	0,94
	6	0,41	0,27
	7	0,32	0,25
	8	0,47	0,41
	9	0,22	0,17
	10	0,49	0,34
11-Junio-81	1	0,43	0,03
	2	0,03	0,50
	3	0,17	0,27
	4	0,24	0,16
	5	0,83	0,05
	6	0,42	0,39
	7	0,16	0,19
	8	0,48	0,04

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
25-Junio-81	1	0,04	0,75
	2	0,55	0,91
	3	1,35	0,76
	4	0,46	0,03
	5	1,67	0,10
	6	1,06	0,07
	7	2,33	0,08
	8	0,16	2,47
	9	0,55	0,60
	10	0,95	1,02
10-Julio-81	1	0,58	0,45
	2	0,72	0,54
	3	0,39	0,30
	4	0,04	1,60
	5	0,02	0,57
	6	0,72	0,03
	7	0,23	0,30
	8	0,56	0,55
	9	1,22	0,03
	10	0,85	0,03
	11	0,35	0,49
	12	0,25	0,43
	13	0,53	0,65

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
23-Julio-81	1	0,53	indicios
	2	0,18	indicios
	3	0,02	1,46
	4	0,84	0,05
	5	0,02	0,48
	6	0,74	0,04
	7	0,34	0,30

Quimiotipo III : Dioico 461 y 458

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
30-Abril-81	1	0,06	1,19
	2	0,13	0,12
	3	0,04	0,49
	4	indicios	0,38
	5	0,24	0,31
	6	0,02	0,53
	7	0,02	0,20
	8	indicios	0,49
	9	0,16	0,18
18-Mayo-81	1	0,04	1,32
	2	0,04	0,64
	3	0,36	0,51
	4	0,04	1,02
	5	0,80	0,52
	6	0,28	0,28
	7	0,29	0,11
	8	indicios	0,09
	9	indicios	0,19
	10	indicios	0,65

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
28-Mayo-81	1	0,70	0,49
	2	0,42	0,31
	3	0,07	0,74
	4	0,02	0,80
	5	indicios	0,66
	6	0,02	0,44
	7	0,03	1,58
	8	0,01	0,47
11-Junio-81	1	indicios	1,18
	2	indicios	1,35
	3	indicios	0,80
	4	indicios	0,59
	5	indicios	0,73
	6	0,14	0,09
	7	0,06	0,07
25-Junio-81	1	0,04	1,36
	2	indicios	1,70
	3	indicios	2,06
	4	indicios	1,88
	5	indicios	1,25

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
10-Julio-81	1	0,51	0,35
	2	0,48	0,38
	3	0,61	0,63
23-Julio-81	1	0,82	0,65
	2	0,66	1,17
	3	0,94	0,76
	4	0,06	1,28
	5	0,14	1,57
	6	0,46	0,55

Híbrido : F_1 461

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
18-Mayo-81	1	0,79	0,61
	2	0,60	0,05
	3	1,47	0,77
	4	0,77	0,49
	5	2,18	0,05
	6	0,42	0,27
	7	1,12	0,58
	8	0,47	0,30
	9	0,75	indicios
	10	0,88	0,48
	11	0,83	0,51
	12	0,95	0,05
	13	1,80	0,05
	14	1,17	0,03
	15	0,74	0,03
	16	0,76	0,46
	17	0,36	0,33
	18	0,64	0,38
	19	0,86	0,45
	20	1,00	0,03
	21	0,51	0,28
	22	1,56	0,05
	23	0,67	0,03
	24	0,99	0,55
	25	1,98	0,05

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
28-Mayo-81	1	0,80	0,03
	2	0,72	0,50
	3	1,09	0,80
	4	0,67	0,01
	5	0,74	0,54
	6	0,61	0,40
	7	0,96	0,06
	8	1,60	indicios
	9	2,26	0,08
	10	0,46	indicios
	11	1,21	0,04
	12	0,76	0,48
	13	0,96	0,03
	14	1,14	0,81
	15	0,67	0,04
	16	1,39	0,06
	17	0,64	0,42
	18	0,59	0,37
	19	0,60	0,04
	20	1,07	0,04
	21	0,99	0,42
	22	0,92	0,67
	23	0,92	0,77
	24	1,36	0,05

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
11-Junio-81	1	1,17	0,40
	2	0,77	0,48
	3	0,59	indicios
	4	1,27	0,72
	5	0,98	0,62
	6	0,83	0,02
	7	1,20	indicios
	8	0,74	0,40
	9	0,42	0,35
	10	0,45	0,14
	11	0,37	0,04
	12	0,55	0,27
	13	0,59	0,72
	14	0,40	0,19
	15	0,28	0,10
	16	0,98	0,05
	17	0,37	0,24
	18	1,40	0,05
	19	1,30	0,04
	20	1,10	0,65
	21	0,35	0,27
	22	0,92	0,75
	23	1,08	0,64
	24	0,60	0,44

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
25-Junio-81	1	1,12	0,04
	2	0,66	0,04
	3	0,98	0,99
	4	0,24	0,18
	5	1,65	0,05
	6	1,01	0,02
	7	1,45	indicios
	8	0,54	indicios
	9	0,73	indicios
	10	0,60	0,38
	11	0,77	0,49
	12	0,30	0,23
	13	0,81	0,56
	14	0,68	0,37
	15	0,47	indicios
	16	0,89	0,70
	17	0,73	0,46
	18	0,40	0,34
	19	0,54	0,37
	20	0,64	0,37
	21	0,77	0,04
	22	0,69	0,03
	23	0,75	0,43
	24	1,42	0,75

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
10-Julio-81	1	0,89	0,69
	2	0,71	0,67
	3	0,69	0,62
	4	1,69	1,24
	5	1,60	0,06
	6	0,97	0,52
	7	1,50	0,04
	8	1,83	0,06
	9	1,32	0,07
	10	0,81	0,40
	11	0,92	0,52
	12	0,96	0,05
	13	0,79	0,04
	14	1,16	0,76
	15	0,40	0,21
	16	1,28	0,82
	17	1,01	0,66
	18	2,71	0,08
	19	0,66	0,51
	20	1,44	0,04
	21	1,00	0,71
	22	0,77	0,79
	23	0,98	0,74
	24	0,81	0,63
	25	0,61	0,46

FECHA DE SIEMBRA	PLANTA	% CBD	% THC
23-Julio-81	1	0,40	0,31
	2	1,39	0,34
	3	1,15	0,33
	4	0,84	0,75
	5	1,71	0,05
	6	1,41	0,04
	7	0,92	0,03
	8	1,25	0,03
	9	0,27	0,24
	10	0,65	0,49
	11	1,41	0,04
	12	0,92	0,03
	13	1,25	0,03
	14	0,27	0,24
	15	0,65	0,49
	16	0,43	0,31
	17	1,02	0,03
	18	1,03	0,04
	19	0,96	0,02
	20	1,60	0,05
	21	1,81	0,05
	22	2,25	0,06
	23	1,23	0,07
	24	0,89	0,05
	25	1,60	0,07

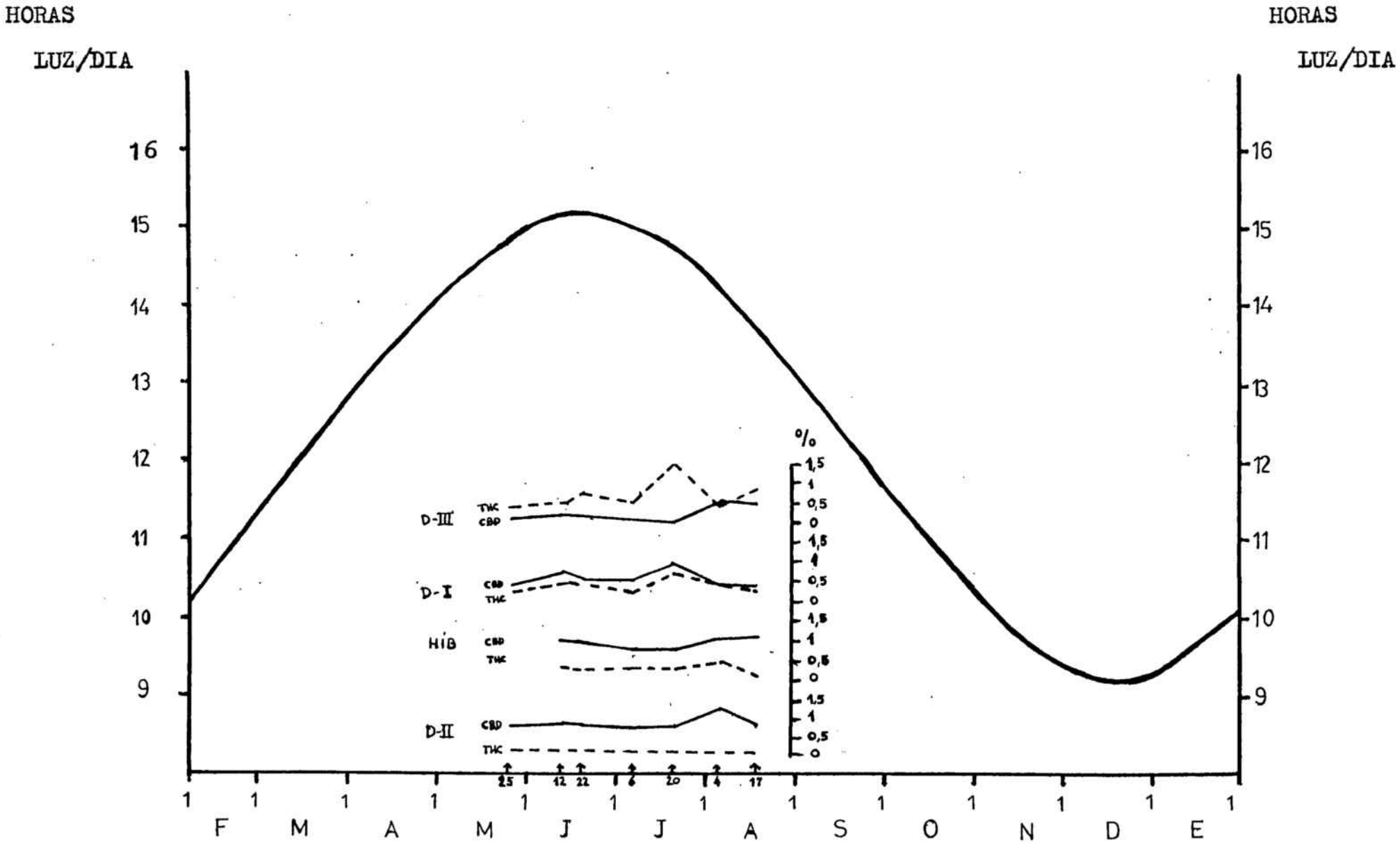
Se procedió al cálculo de las medias aritméticas y a la representación gráfica de éstas, figurando en ordenadas las horas de luz diarias así como el contenido en cannabinoides, y en abscisas las fechas de siembra más 25 días, momento a partir del cual, según nuestras experiencias, consideramos que empiezan a formarse los cannabinoides (Tabla VI) (Fig. 9).

TABLA VI

VARIEDAD	CANNABINOIDE	30-Abril	18-Mayo	28-Mayo	11-Junio	26-Junio	10-Julio	23-Julio
Q - II	CBD	0,69	0,83	0,82	0,73	0,74	1,19	0,82
	THC	Ind.	Ind.	Ind.	Ind.	Ind.	Ind.	Ind.
Q - I	CBD	0,36	0,67	0,51	0,51	0,90	0,49	0,38
	THC	0,19	0,46	0,42	0,26	0,68	0,43	0,34
Q - III	CBD	0,07	0,18	0,13	0,05	0,01	0,53	0,49
	THC	0,39	0,53	0,71	0,50	1,50	0,45	0,82
HIBRIDO	CBD	*	0,96	0,92	0,77	0,78	1,10	1,07
	THC	*	0,27	0,26	0,30	0,29	0,45	0,16

* Los individuos no se desarrollaron adecuadamente.

FIGURA 9


HORAS
LUZ/DIA
HORAS
LUZ/DIA
16
15
14
13
12
11
10
9
%
1,5
1
0,5
0
D-III
THC
CBD
D-I
CBD
THC
HIB
CBD
THC
D-II
CBD
THC
25
12
22
6
20
4
17
1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
F M A M J J A S O N D E

Dejando aparte el quimiotipo II, que por tener únicamente indicios de THC no puede seguirse su evolución, el ejemplo más representativo nos aparece en el quimiotipo I.

En éste la evolución de CBD y THC se muestra prácticamente paralela, como era de esperar por la propia definición que hemos dado a este quimiotipo.

El máximo contenido en cannabinoides se alcanza en el lote sembrado el 25 de Junio, marcado en la gráfica como 20 de Julio. Estas plantas fueron sembradas en un período en el que el nº de horas de luz/día es muy elevado. Durante su desarrollo los días vuelven a acortarse. Siendo Cannabis sativa L. una planta de días cortos, cuantitativa, esta disminución de la longitud del día induce rápidamente la floración, consiguiéndose individuos poco desarrollados y, como se observa en los análisis, de alto contenido en cannabinoides.

Sin embargo, los individuos sembrados el 30 de Abril (25 de Mayo en la gráfica) se vieron sometidos a un fotoperíodo creciente que alcanza su máximo a finales de Junio, para volver a disminuir en el mes de Julio, produciéndose entonces la floración. Ello permite conseguir un óptimo grado de desarrollo del vegetal y paralelamente un mínimo contenido en CBD y THC.

En el quimiotipo III no se cumple el paralelismo en la evolución de los cannabinoides. Cuando el THC alcanza el máximo de su contenido, el CBD se halla en el mínimo correspondiente, reafirmándose, si cabe, como tal quimiotipo.

Lo señalado en cuanto al desarrollo vegetativo y al contenido en principios alucinógenos para el quimiotipo I puede aplicarse también al quimiotipo III. Pero se observa un com-

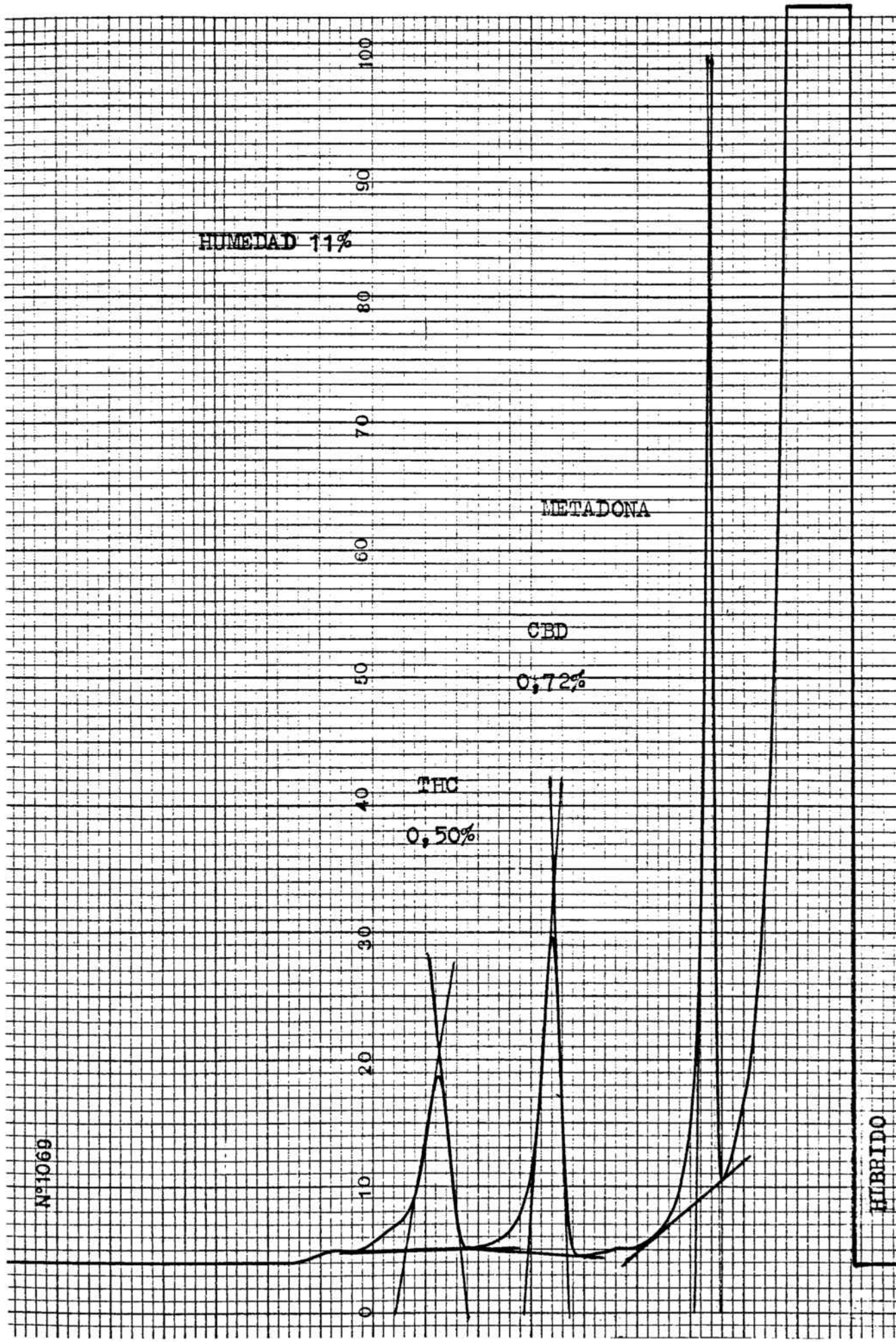
portamiento anormal en la siembra efectuada el 10 de Julio (4 de Agosto en la gráfica), en la que el THC desciende hasta un mínimo, y la proporción de CBD supera ligeramente la de aquél.

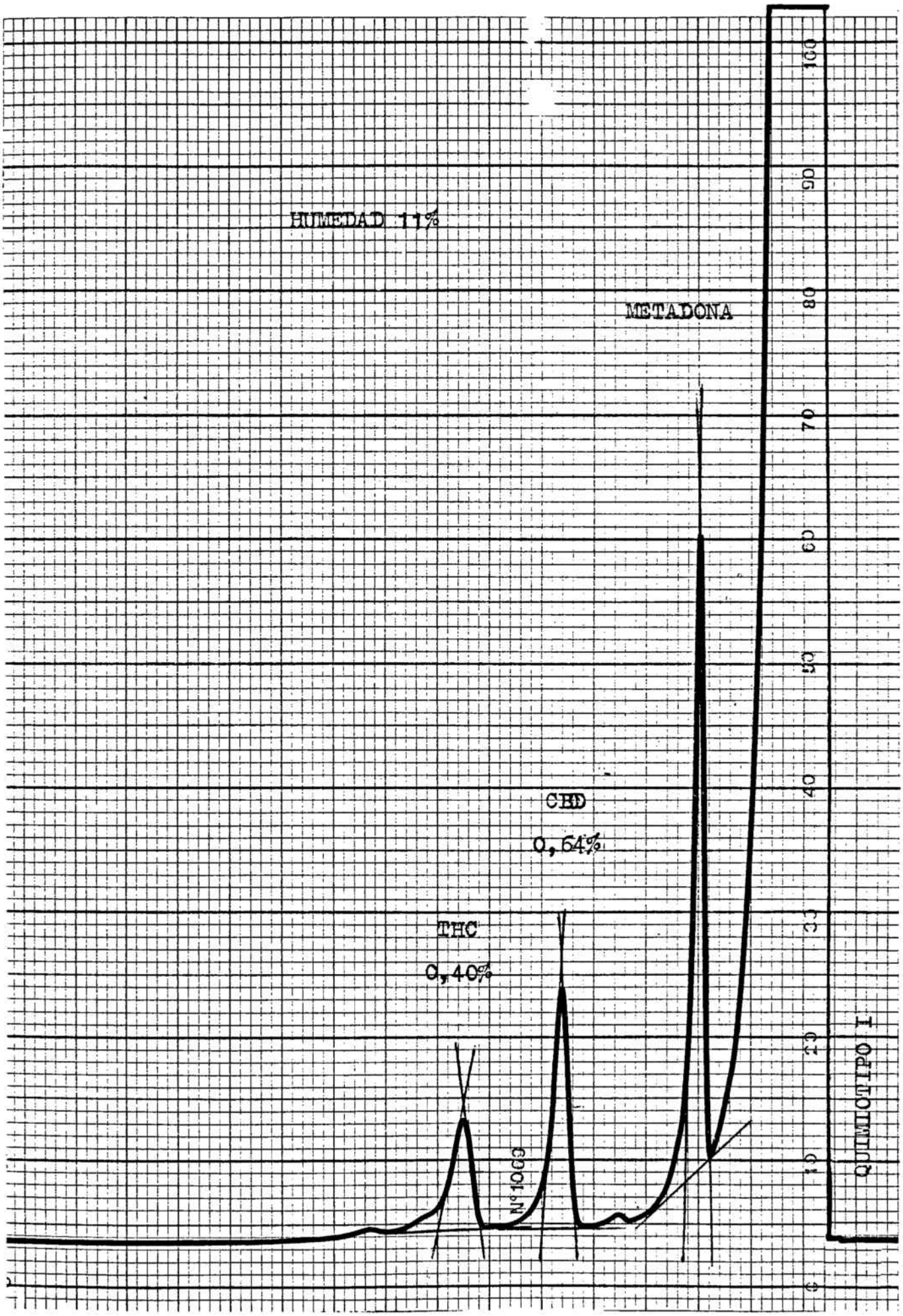
Para explicar este fenómeno puede pensarse en una posible anomalía enzimática en la ruta biosintética que conduce a la formación de THC en la planta, debida quizás a la rápida inducción de la floración.

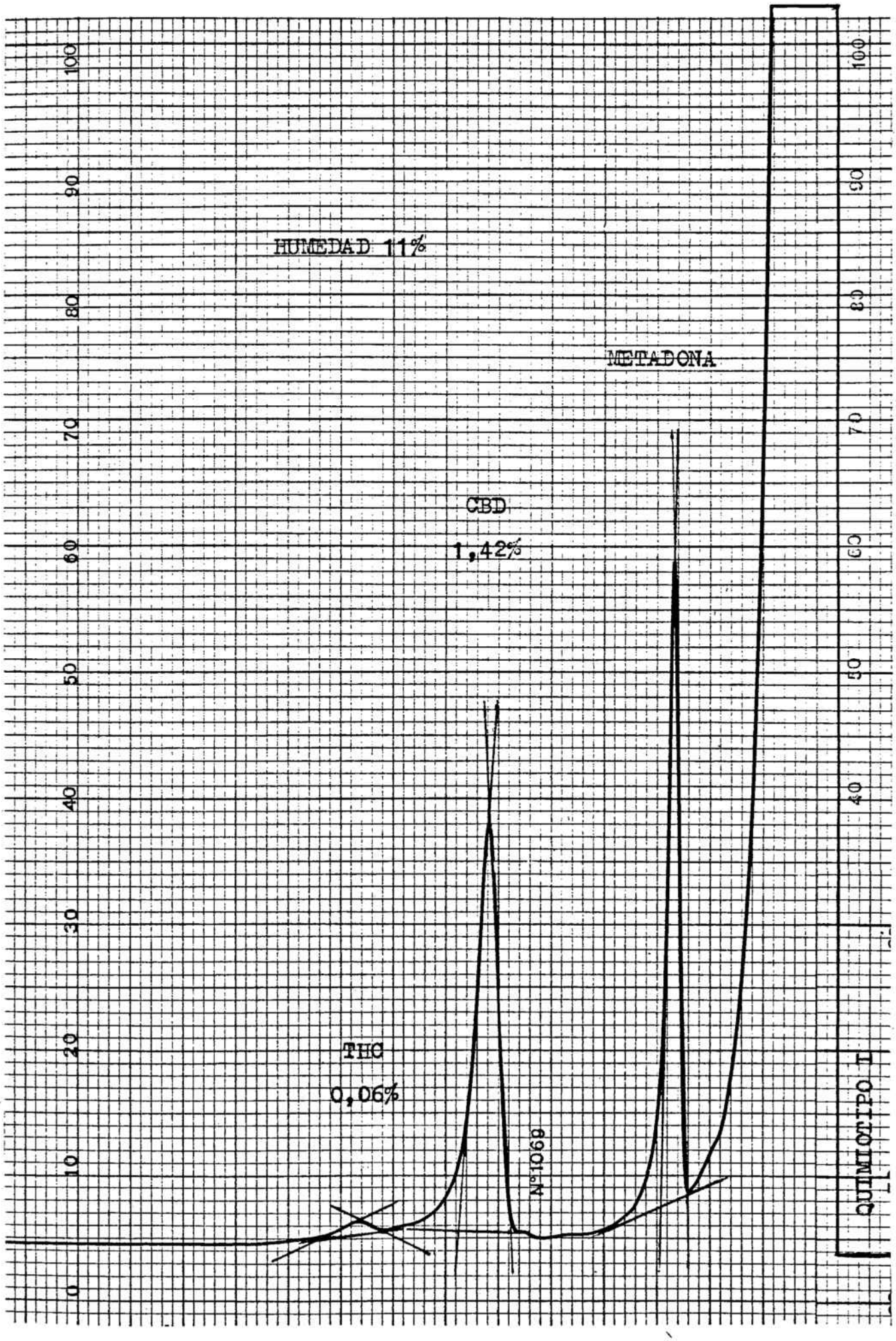
En el híbrido no ha sido posible observar una variación significativa del contenido de cannabinoides influenciada por el fotoperíodo.

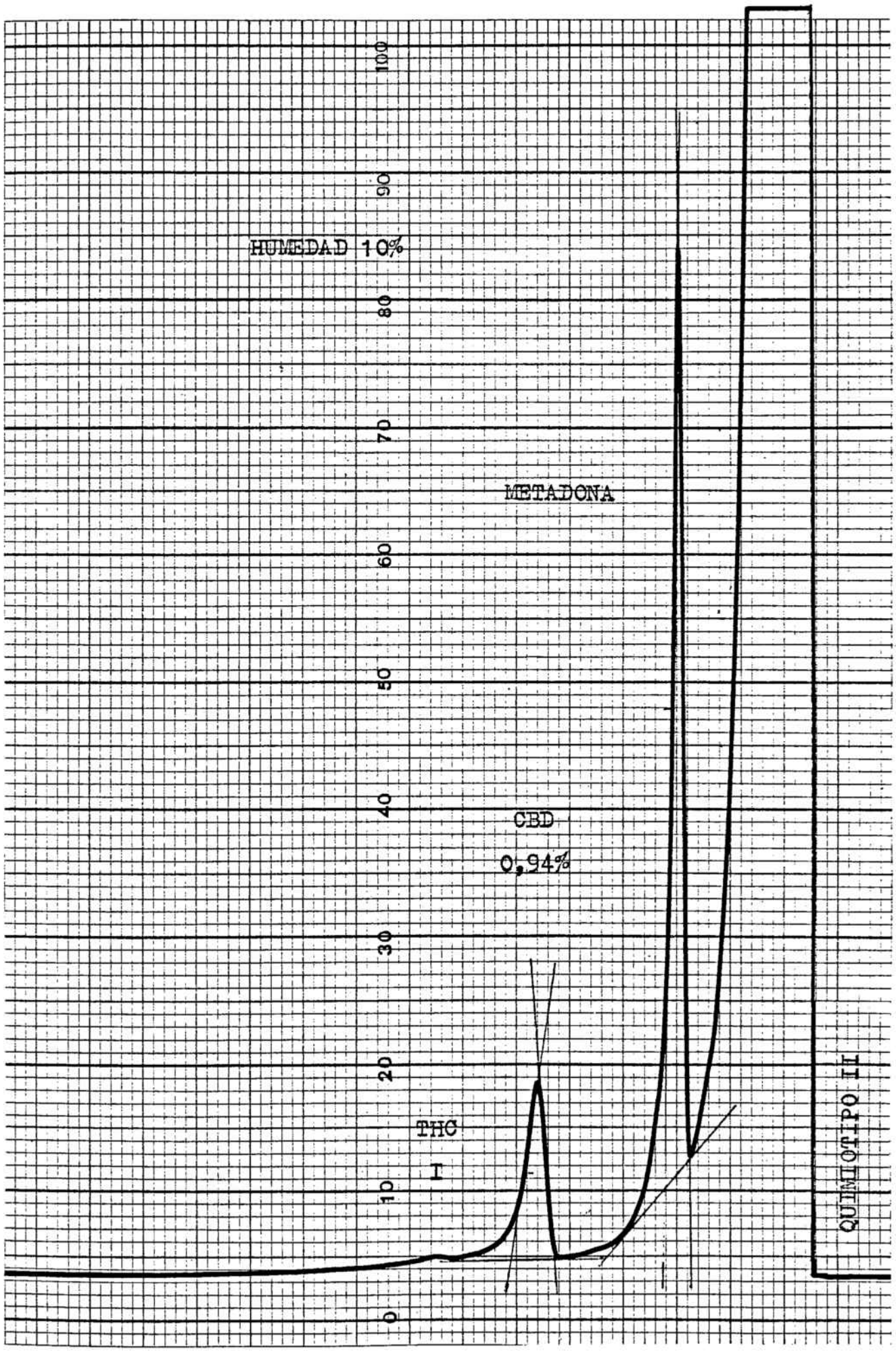
Con los datos obtenidos se demuestra que para la utilización textil y papelera, la fecha óptima de siembra de C. sativa L. es a finales del mes de Abril, mientras que ésta nunca deberá realizarse a partir de los últimos días de Junio, en los que el fotoperíodo es decreciente y mínimo el desarrollo vegetativo (VALLE y col. 1.978)(FAIRBAIRN Y LIEBMANN 1.973).

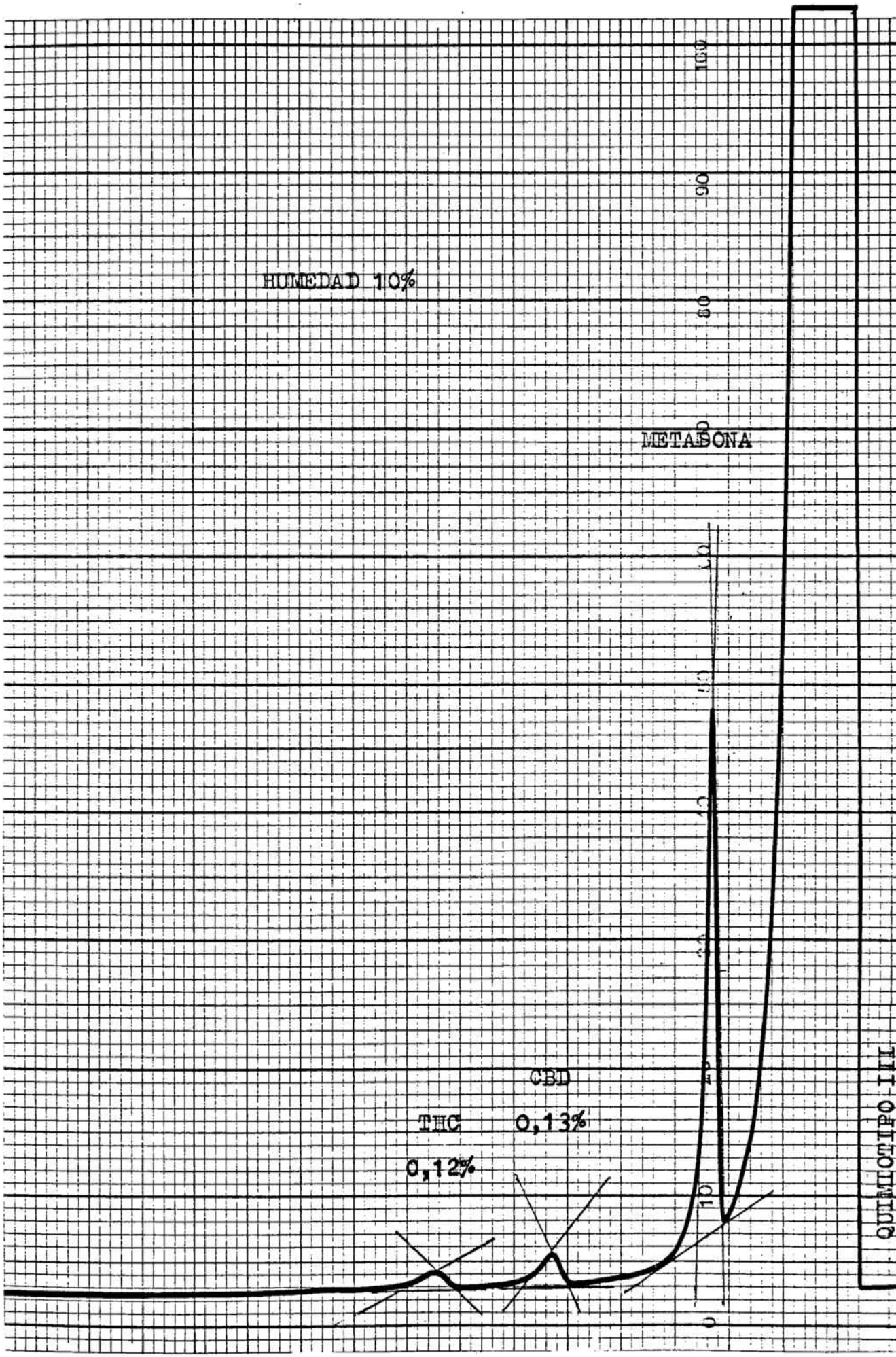
CROMATOGRAMAS


HUMEDAD 11%
METADONA
CBD
0,72%
THC
0,50%
HIBRIDO
N°1069
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0


HUMEDAD 11%
METADONA
CBD
0,64%
THC
0,40%
Nº 1003
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
QUIMOTIPO I


HUMEDAD 11%
METADONA
CBD
1,42%
THC
0,06%
Nº1068
QUIMIOTIPO I


HUMEDAD 10%
METADONA
CBD
0,94%
THC
I
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
QUIMIOTIPO II


HUMEDAD 10%
METADONA
CBD
0,13%
THC
0,12%
QUIMIOTIPO III
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0

10.- RADIACIONES γ

10.1.- Concepto

La Evolución viene determinada por una sucesión de mutaciones encaminadas a la obtención de diversos genotipos de los que sólo sobrevivirán los mejores y más adaptados, gracias a un proceso de selección natural.

El hombre intenta aplicar este sistema de mejora con el fin de conseguir genotipos de mayor interés. Se introduce así en el campo de la genética, y más concretamente de la mutagénesis artificial. Su estudio tiene por finalidad el obtener tratamientos capaces de aumentar la frecuencia espontánea de mutación o tratamientos mutagénicos.

Las mutaciones inducidas constituyen una vía esperanzadora para romper la dependencia de la naturaleza como único origen de variantes genéticos necesarios para la mejora de plantas. Pero un inconveniente puede ser la aparición de mutaciones desfavorables en mayor proporción que las favorables (cientos a uno), y además la mayoría de los mutantes que se obtienen son recesivos.

Actualmente se considera que en la mutagénesis artificial (así como en la natural) operan dos procesos básicos simultáneamente: un proceso mecánico de rotura del material hereditario y uno químico de alteración del mismo.

Se conocen varios agentes que afectan el valor de la mutación, destacando por su importancia los agentes químicos y las radiaciones. Profundizaremos en estas últimas por ser el

método empleado en el presente trabajo.

Las radiaciones utilizadas comunmente como mutagénicas son de dos tipos: no ionizantes e ionizantes, ya sean éstas ondulatòrias (rayos X, rayos γ) o corpusculares (partículas α, β o neutrones), aunque la física moderna no establece una clara diferenciación entre ellas, ya que cualquier onda lleva asociada una partícula (Einstein, Planck), y cualquier partícula en movimiento da lugar a una onda (de Broglie).

Todas las radiaciones ionizantes transmiten su energía a los átomos del material que atraviesan mediante la emisión de electrones (ionización), o por la excitación de los átomos correspondientes.

La ionización tiene lugar en los átomos situados a lo largo del trayecto de la radiación, pero también en los que se hallan en las trayectorias de los electrones emitidos, que producen ulteriores ionizaciones mientras pierden energía al colisionar con los átomos. La densidad de ionización a lo largo del recorrido depende de la energía inicial y de la masa de la partícula ionizante.

Las radiaciones ionizantes electromagnéticas u ondulatorias dan lugar a ionizaciones de distribución irregular. La densidad iónica aproximada por μm. para las radiaciones γ es de hasta 200. La eficacia mutagénica de la radiación y el tipo producido está en relación con esta densidad iónica.

Los rayos X y los rayos γ tienden a ocasionar mutaciones puntuales en mucha mayor proporción que alteraciones de tipo cromosómico. Prácticamente son las radiaciones más empleadas como mutagénicas en plantas cultivadas.

Los rayos γ son producidos por radioisótopos del tipo cobalto 60, cesio 137, o cesio 137 - bario 137. Actualmente se utiliza éste último con mayor profusión debido a que posee una vida media superior a la del primero (30 años frente a 5,27 del cobalto 60).

Aunque como los rayos X, la naturaleza de los rayos γ es electromagnética u ondulatoria, el poder penetrante de ésta es superior, ya que su longitud de onda es más pequeña. En nuestro caso, la penetración en semillas es de varios cm.

La unidad de energía es el electrón-voltio, siendo para los rayos γ de varios MeV.

La cantidad o dosis de radiación que se emplea para inducir la mutación se medía antes en Roentgen, pero actualmente se ha adoptado el Rad (1.953), que se define como "la unidad de dosis absorbida equivalente a 100 ergios por gramo (LACADENA 1.970)". Mide la energía que la radiación ionizante confiere a la materia, refiriéndolo siempre a la unidad de masa de la zona de interés en el material irradiado.

Las dosis de irradiación serán las que provoquen la aparición de gran número de mutantes respecto al número de plantas, semillas, etc., tratadas.

Para tener una guía sobre la dosis que debe utilizarse buscamos la DL_{50} o dosis que provoca la muerte del 50% del material que se irradia. La radiorresistencia del material vegetal varía con el individuo, la especie, el genotipo, las condiciones fisiológicas del mismo (estado de diferenciación y desarrollo, edad del tejido irradiado, actividad respiratoria, nutrición, estado de hidratura), o la duración del almacena-

miento de las semillas después ser irradiadas. También influyen las condiciones de aplicación de la irradiación (SANCHEZ MONGE 1.974).

En nuestro caso, la DL_{50} para semillas de Cannabis sativa L. se ha visto que es de 14.200 Rads. Si aplicamos dosis superiores se inhibe el desarrollo en proporción lineal o exponencial.

Los factores que intervienen en la acción de las radiaciones ionizantes son los siguientes:

A/ Tipo de radiación:

La efectividad se mide como eficacia biológica relativa (EBR).

B/ Dosis:

Debe tenerse en cuenta la intensidad de dosis o continuidad de radiación por unidad de tiempo (Rads/día, Rads/hora, etc.), pudiendo clasificarlas en dosis agudas y dosis crónicas.

C/ Material irradiado:

- Volumen nuclear.
- Grado de poliploidía.
- Número de cromosomas a nivel diploide.
- Duración del ciclo de división nuclear.
- Tejido.
- Genotipo.

D/ Factores externos:

. Temperatura: La mayor sensibilidad de las semillas a la radiación es entre los 15 y 20ºC.

. Agua: La radiosensibilidad de las semillas es mínima para una humedad del 4%, y crece para valores menores, pero sobre todo mayores.

. Oxígeno.

10.2.-Aplicación a la mejora genética de C. sativa L.

Consideramos aquí el segundo tratamiento a que ha sido sometido el Cannabis para la consecución de fenotipos adecuados para el uso industrial.

Se ha empleado la radiación γ como agente mutagénico con el fin de obtener un incremento del número de mutantes, y ver si alguno de ellos puede resultar de mayor utilidad en lo que a producción de fibra se refiere.

Se partió en el año 1.980 de plantas del quimiotipo III, y por tanto de alto contenido en THC, para poder observar mejor las fluctuaciones de este principio activo. Se recolectaron sus semillas y se guardaron para el año siguiente.

Antes de la época de siembra se dispusieron las semillas en salas especiales y en 4 lotes. Allí fueron irradiadas mediante una bomba de cobalto. Cada lote era retirado al cabo de cierto tiempo con el fin de que recibieran dosis distintas de irradiación. A más tiempo de exposición más dosis.

De este modo la radiación recibida fue la siguiente:

R - 1 ..... 5.000 Rads
R - 2 ..... 10.000 Rads
R - 3 ..... 15.000 Rads
R - 4 ..... 20.000 Rads

Se reservó un lote sin irradiar que se empleó como control.

Al cabo de cierto tiempo se procedió a su siembra. Al florecer se recogieron las inflorescencias femeninas y se

efectuó su análisis.

Mientras que en lote control fueron viables 38 individuos, en el lote R - 1 y R - 2 el número fue de 33 y 32 respectivamente, clara evidencia de la aparición de lesiones mutagénicas que comprometieron la vida de los individuos.

Más marcada fue la diferencia con los lotes restantes.

Siendo la DL_{50} de 14.200 Rads, en R - 3 (que recibió 15,000 Rads) quedaron tan sólo 13 individuos, y en R - 4 (20.000 Rads) 8.

De todo ello podemos deducir la inconveniencia de utilizar dosis superiores a 10.000 Rads, ya que anularían la rentabilidad de cualquier cultivo de cáñamo.

Los resultados del contenido en cannabinoides de estas plantas se exponen en el apartado siguiente.

10.2.1.-Resultados

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
CONTROL	1	0,08	1,30
	2	0,59	0,71
	3	0,04	2,41
	4	0,59	0,74
	5	0,70	0,87
	6	0,70	0,58
	7	0,06	1,10
	8	1,29	1,10
	9	indicios	1,35
	10	1,28	1,10
	11	0,02	0,87
	12	indicios	1,03
	13	0,42	0,44
	14	0,04	0,75
	15	0,41	0,34
	16	indicios	1,16
	17	0,90	0,73
	18	indicios	1,23
	19	0,34	0,37
	20	0,40	0,45

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
CONTROL	21	0,44	0,38
	22	indicios	0,82
	23	0,34	0,28
	24	indicios	1,20
	25	indicios	0,68
	26	0,02	0,74
	27	0,78	0,63
	28	indicios	0,61
	29	0,37	0,30
	30	0,42	0,39
	31	indicios	1,05
	32	0,02	1,28
	33	0,33	0,67
	34	indicios	1,15
	35	0,04	1,01
	36	0,48	0,44
	37	0,58	0,59
	38	0,02	1,26
	media	0,07	0,28

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
R - 1	1	0,39	0,43
	2	0,58	0,62
	3	0,50	0,43
	4	2,61	0,04
	5	indicios	0,67
	6	0,04	1,07
	7	0,48	0,60
	8	0,61	0,92
	9	0,46	0,50
	10	0,52	0,42
	11	0,03	1,15
	12	0,02	3,32
	13	0,44	0,52
	14	0,60	0,62
	15	indicios	0,83
	16	0,03	0,93
	17	0,71	0,68
	18	0,05	0,79
	19	indicios	0,66
	20	0,32	0,26

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
R - 1	21	0,01	1,35
	22	indicios	0,60
	23	0,27	0,32
	24	0,35	0,30
	25	indicios	1,02
	26	0,04	1,60
	27	0,40	0,41
	28	0,35	0,42
	29	indicios	0,51
	30	0,97	0,88
	31	indicios	1,91
	32	0,65	0,56
	32	indicios	0,25
	media	0,12	0,34

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
R - 2	1	indicios	0,56
	2	0,50	0,45
	3	0,02	1,27
	4	0,35	0,33
	5	0,02	1,86
	6	0,02	2,43
	7	0,02	1,84
	8	0,02	2,47
	9	0,01	2,16
	10	0,37	0,40
	11	0,50	0,44
	12	indicios	0,51
	13	0,03	1,19
	14	0,44	0,49
	15	indicios	0,32
	16	0,03	0,81
	17	0,38	0,39
	18	0,19	0,22
	19	indicios	0,71
	20	0,69	0,61

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
R - 2	21	0,42	0,42
	22	indicios	1,31
	23	0,02	1,12
	24	indicios	1,29
	25	0,02	0,52
	26	indicios	0,95
	27	0,02	1,17
	28	0,60	0,58
	29	1,13	1,09
	30	0,03	2,85
	31	1,02	1,00
	32	0,03	2,54
	media	0,10	0,36

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
R - 3	1	indicios	1,47
	2	0,38	0,31
	3	0,01	0,83
	4	0,01	1,04
	5	0,03	1,60
	6	1,56	1,24
	7	1,09	1,07
	8	indicios	0,70
	9	0,05	1,16
	10	0,05	0,89
	11	0,03	1,03
	12	1,04	1,11
	13	0,63	0,59
	media	0,38	1,00

LOTE	PLANTA	% CBD	% THC
R - 4	1	0,43	0,42
	2	1,87	1,61
	3	1,11	0,92
	4	2,36	2,07
	5	1,85	1,15
	6	0,32	0,39
	7	0,05	1,00
	8	1,80	1,60
	media	1,22	1,15

En la figura 10 se ha procedido a la representación gráfica de las medias ponderales de THC y CBD de cada lote.

Puede observarse como las radiaciones superiores a 10.000 Rads, que muestran mayor letalidad, son sin embargo las que produjeron un incremento considerable de ambos cannabinoides.

Mientras dosis del orden de 15,000 Rads inducen una elevación superior del THC frente al CBD, dosis de 20.000 Rads provocan un aumento más acusado de CBD que de THC.

En general puede establecerse que a mayor dosis de irradiación mayor riqueza en principios alucinógenos, con la excepción de la dosis de 10.000 Rads que da lugar a un leve descenso del contenido en CBD. Este descenso no es significativo desde el punto de vista estadístico.

Posteriormente se realizó la representación gráfica de los valores obtenidos de CBD frente a los de THC para clasificar los individuos en quimiotipos.

Mientras que en el lote control de un 100% de individuos del quimiotipo III se pasó a un 50% de quimiotipo I y 50% de quimiotipo III, al irradiarse de modo creciente de 5.000 a 15.000 Rads la transformación en quimiotipo es mucho menor. Pero la elevada radiación de 20.000 Rads provoca el paso de un 87,5% a quimiotipo I, mientras sólo un 12,5% se mantiene como quimiotipo III (Tabla VII).

Este último fenómeno concuerda con el hecho antes señalado de que las dosis más altas dan lugar a un incremento superior de CBD que de THC.

Para comprobar que la selección de los quimiotipos ha sido correcta, se ha calculado la recta de regresión y sus

correspondientes coeficientes de correlación para el quimiotipo I en los cinco grupos. Esta magnitud matemática nos da idea de si los valores de los que se ha partido son adecuados, o bien de si alguno difiere mucho del resto, lo cual nos indicaría que aquel individuo podría no pertenecer al quimiotipo que se está considerando.

Como sea que el quimiotipo II prácticamente no aparece, si el coeficiente de correlación para la recta de regresión del quimiotipo I se halla dentro de un margen aceptable ($1 \geqslant R \geqslant -1$), y los individuos que "a priori" hemos considerado del quimiotipo I, matemáticamente también pueden ser considerados como tales, los clasificados como del quimiotipo III consecuentemente también serán correctos.

El proceso contrario de verificar los del quimiotipo I por exclusión de los del quimiotipo III resultaría más erróneo, ya que la recta de regresión del quimiotipo III coincide casi con el eje de ordenadas.

Las rectas de regresión y coeficientes de correlación calculados son los siguientes:

CONTROL	Y = 1,365X - 0,242	r = 0,858
R - 1	Y = 0,921X + 0,055	r = 0,846
R - 2	Y = 0,933X + 0,023	r = 0,994
R - 3	Y = 0,812X + 0,101	r = 0,934
R - 4	Y = 0,777X + 0,084	r = 0,961

Como se ve todos los coeficientes de correlación se hallan comprendidos entre los límites -1 y +1, confirmándonos así que los datos han sido correctamente clasificados.

FIGURA 10

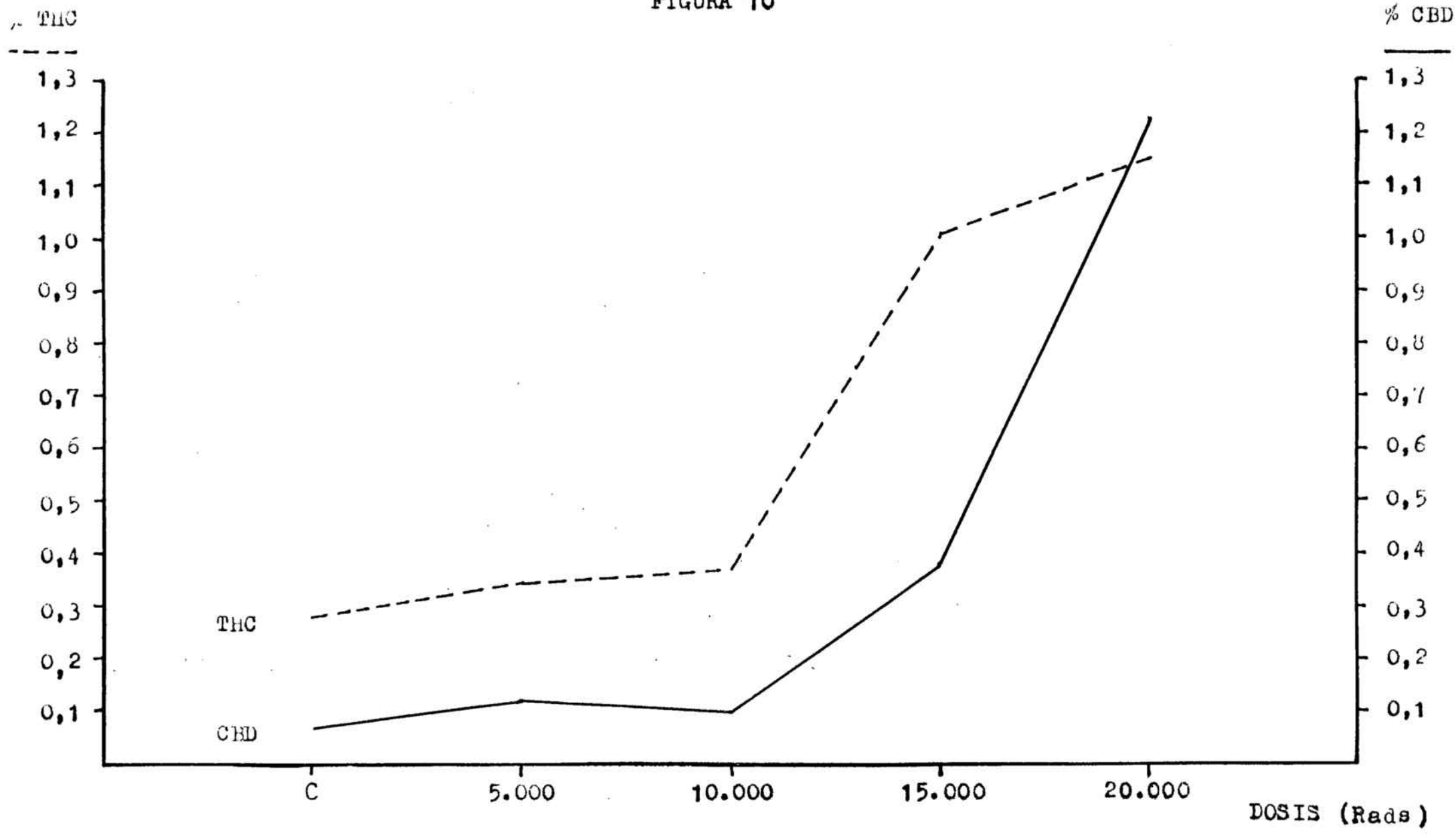

% THC
% CBD
1,3
1,2
1,1
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
THC
CBD
C
5.000
10.000
15.000
20.000
DOSIS (Rads)

TABLA VII

RADIACION	Nº TOTAL INDIVIDUOS	QUIMIOTIPOS - Nº INDIVIDUOS			QUIMIOTIPOS - %		
		II	I	III	II	I	III
CONTROL	38	0	19	19	0	50	50
R - 1 (5.000 R)	33	1	15	17	3,03	45,45	51,51
R - 2 (10.000 R)	32	0	12	20	0	37,50	62,50
R - 3 (15.000 R)	13	0	5	8	0	38,46	61,54
R - 4 (20.000 R)	8	0	7	1	0	87,50	12,50

FIGURA 11

CONTROL

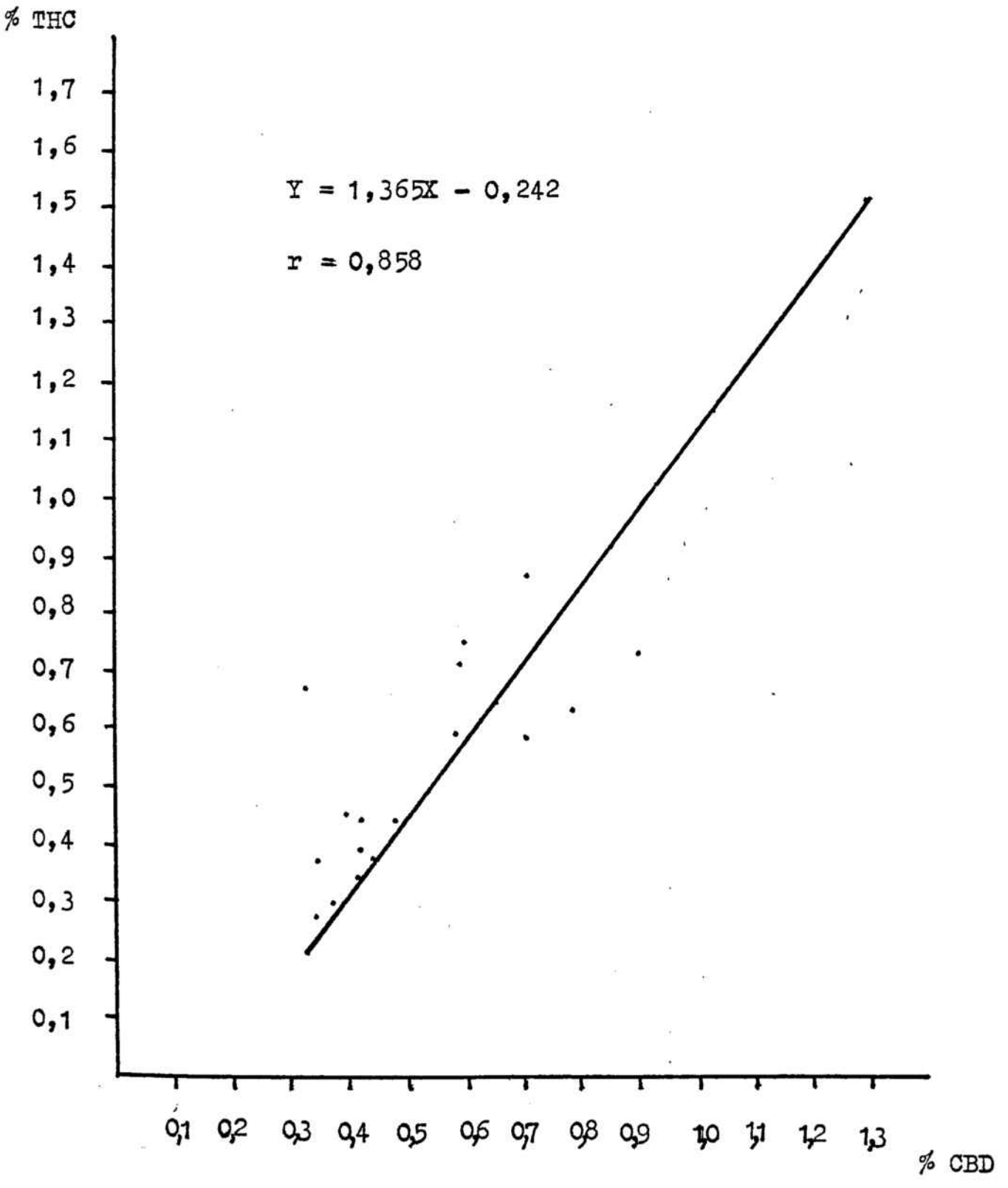


FIGURA 12

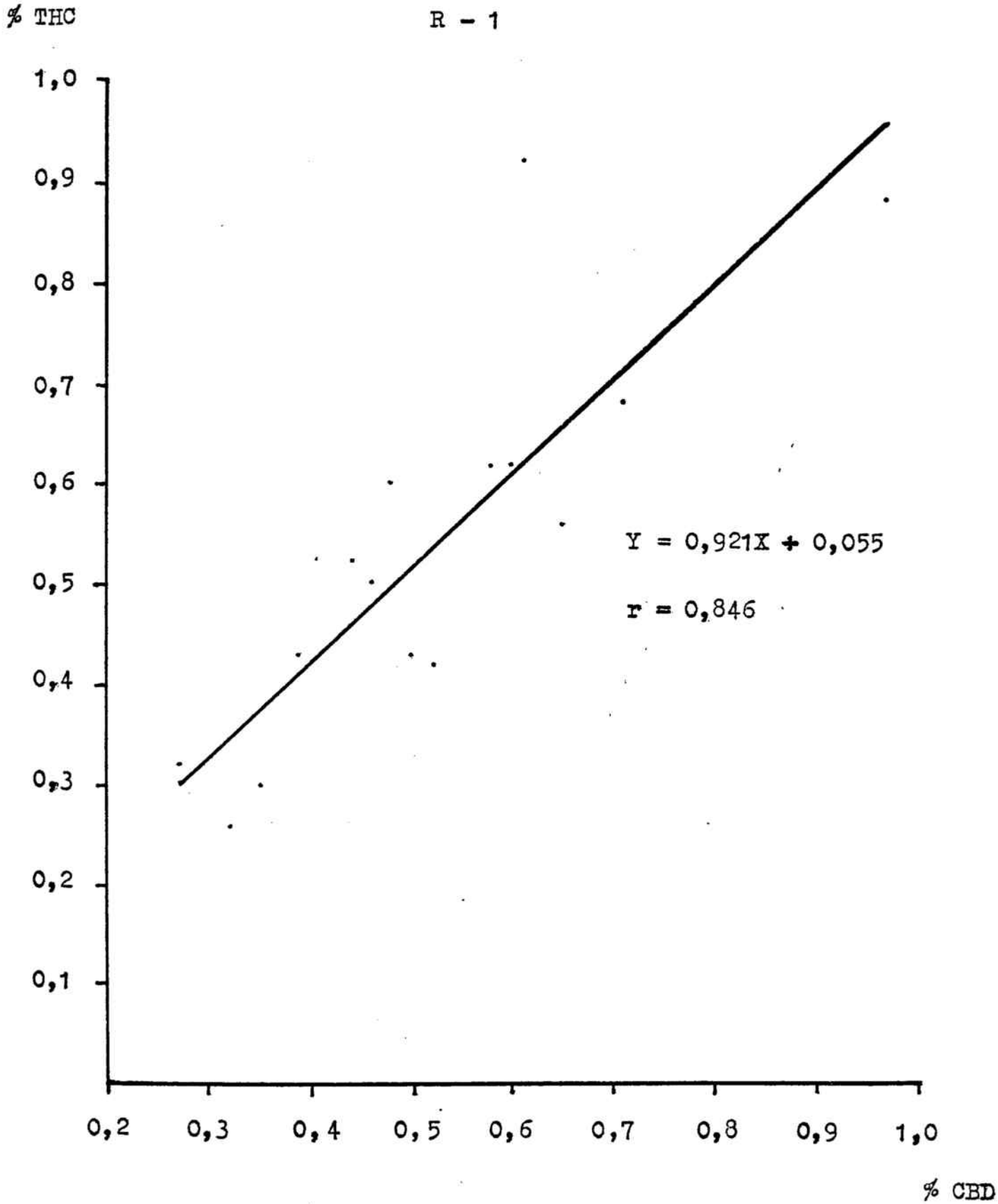

% THC
R - 1
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Y = 0,921X + 0,055
r = 0,846
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0,7
0,8
0,9
1,0
% CBD

FIGURA 13

R - 2

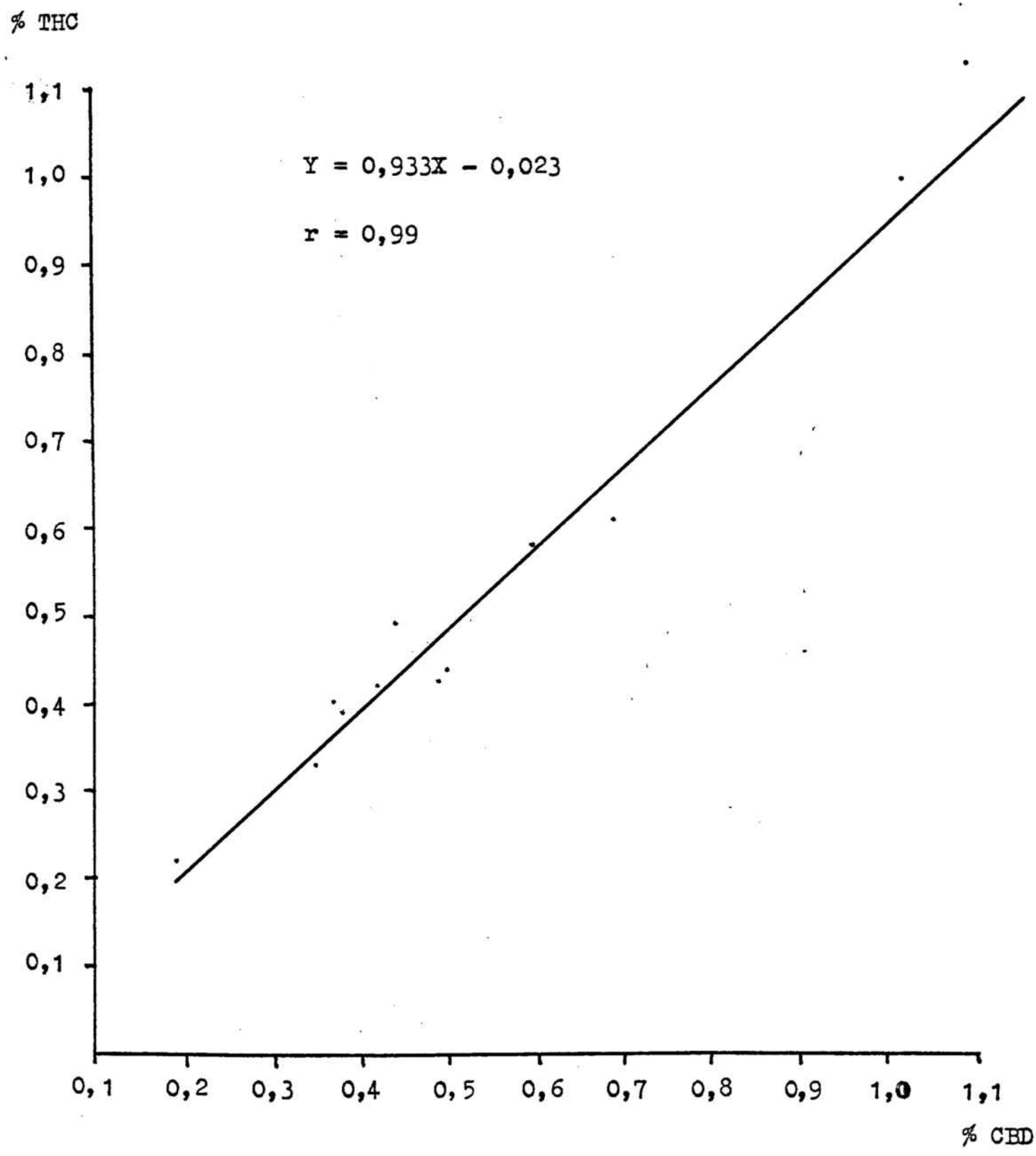

% THC
1,1
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Y = 0,933X - 0,023
r = 0,99
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
0,7
0,8
0,9
1,0
1,1
% CBD

FIGURA 14

R - 3

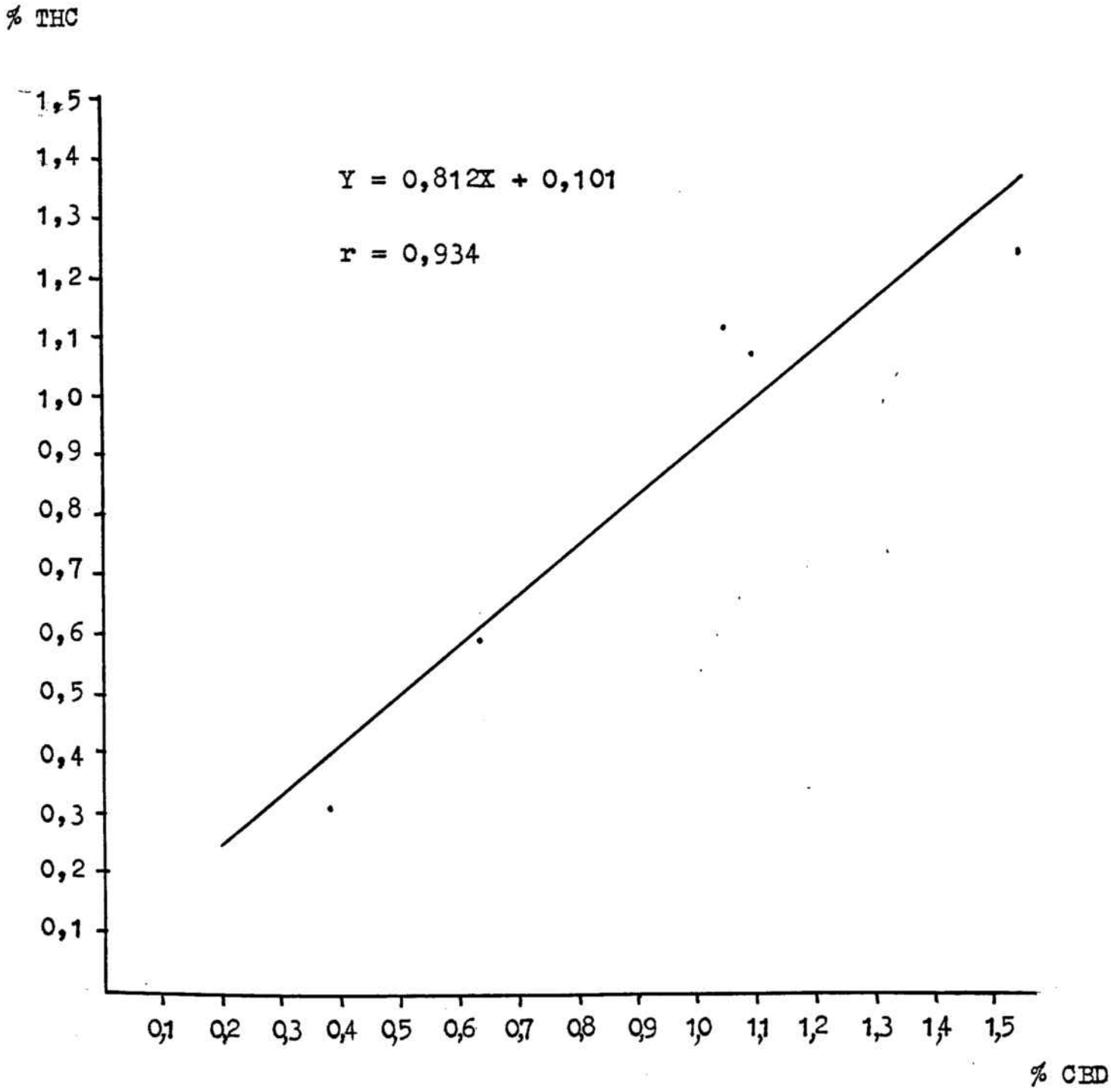
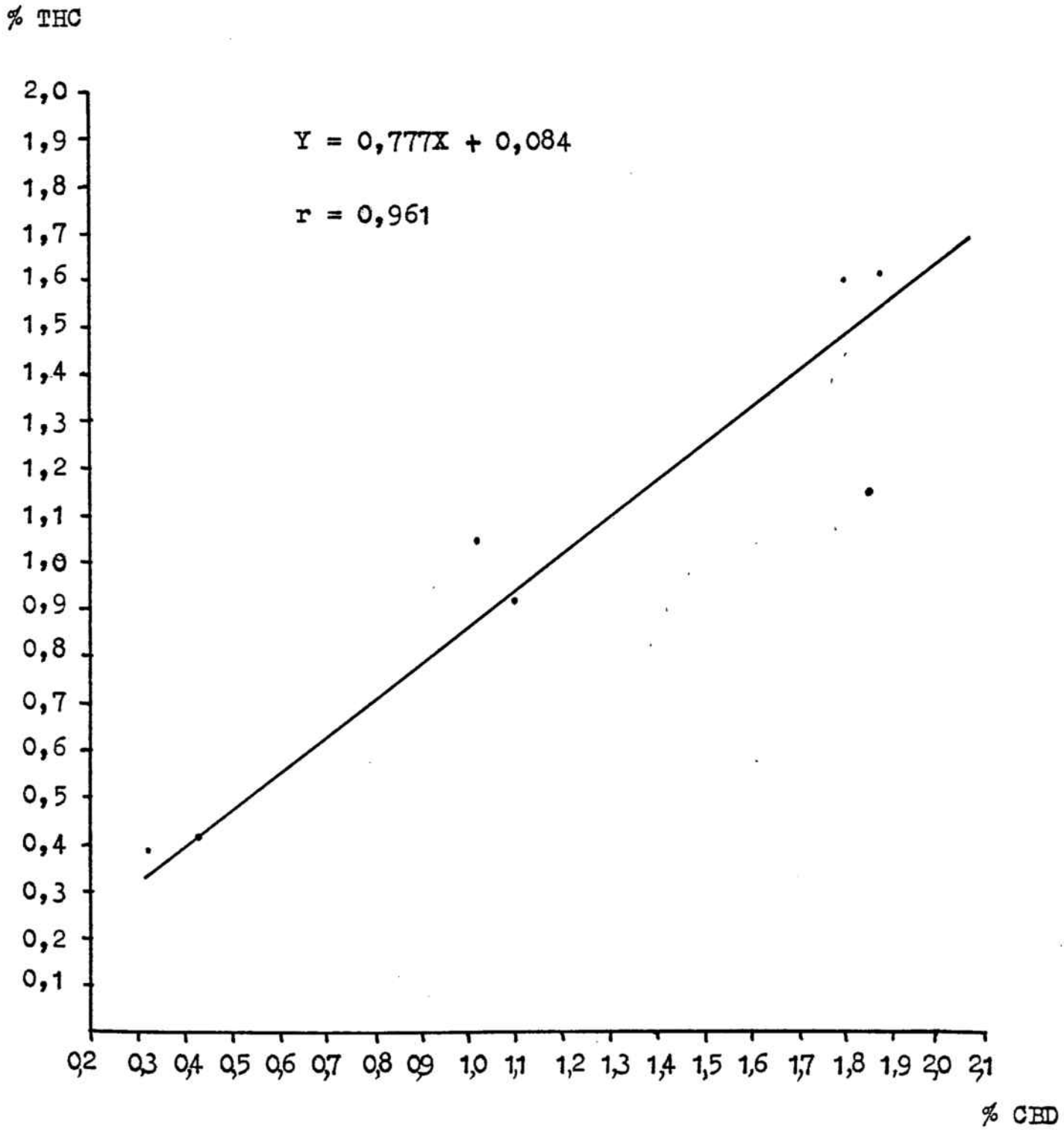
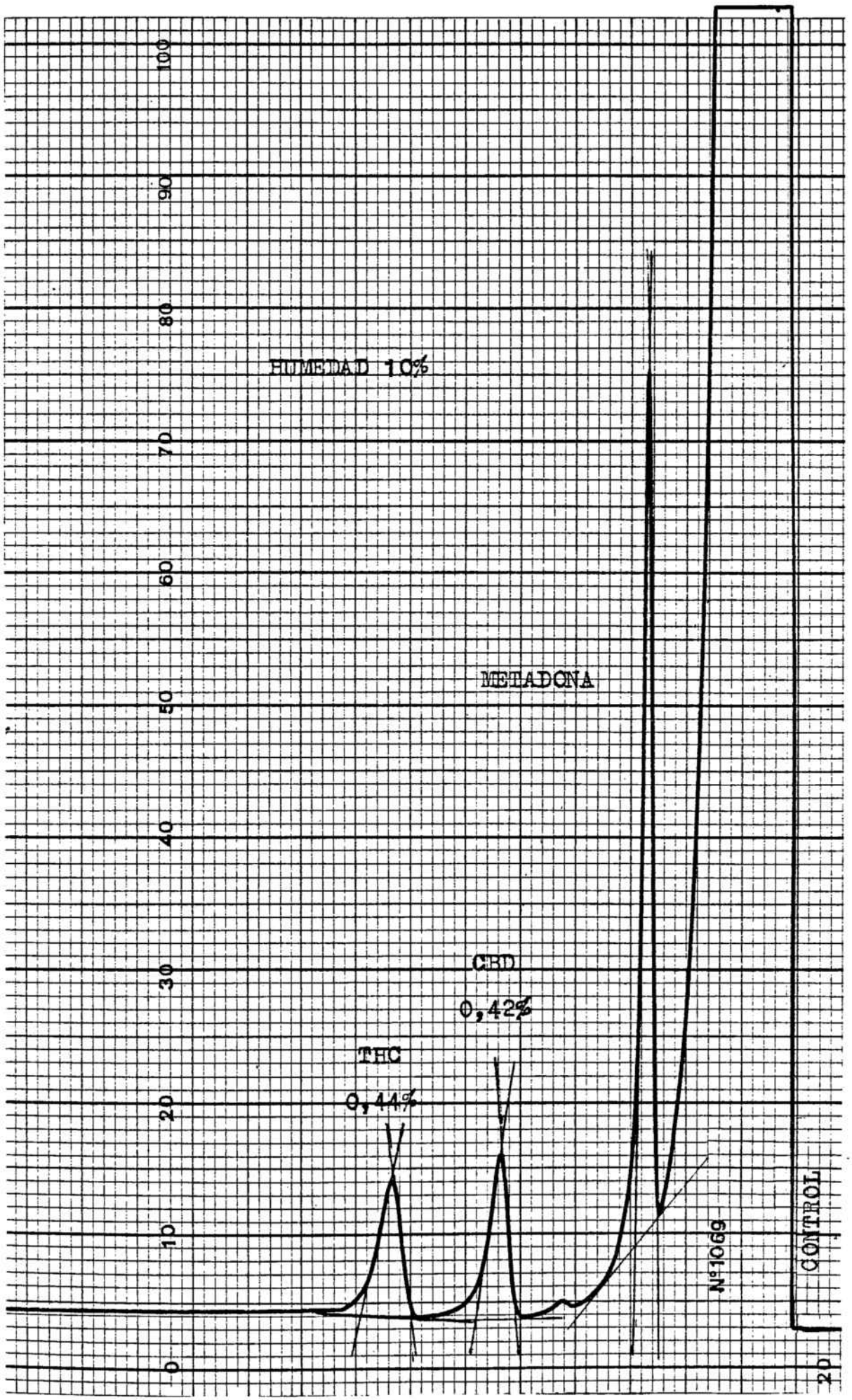

% THC
1,5
1,4
1,3
1,2
1,1
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
Y = 0,812X + 0,101
r = 0,934
0,1 0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0 1,1 1,2 1,3 1,4 1,5
% CBD

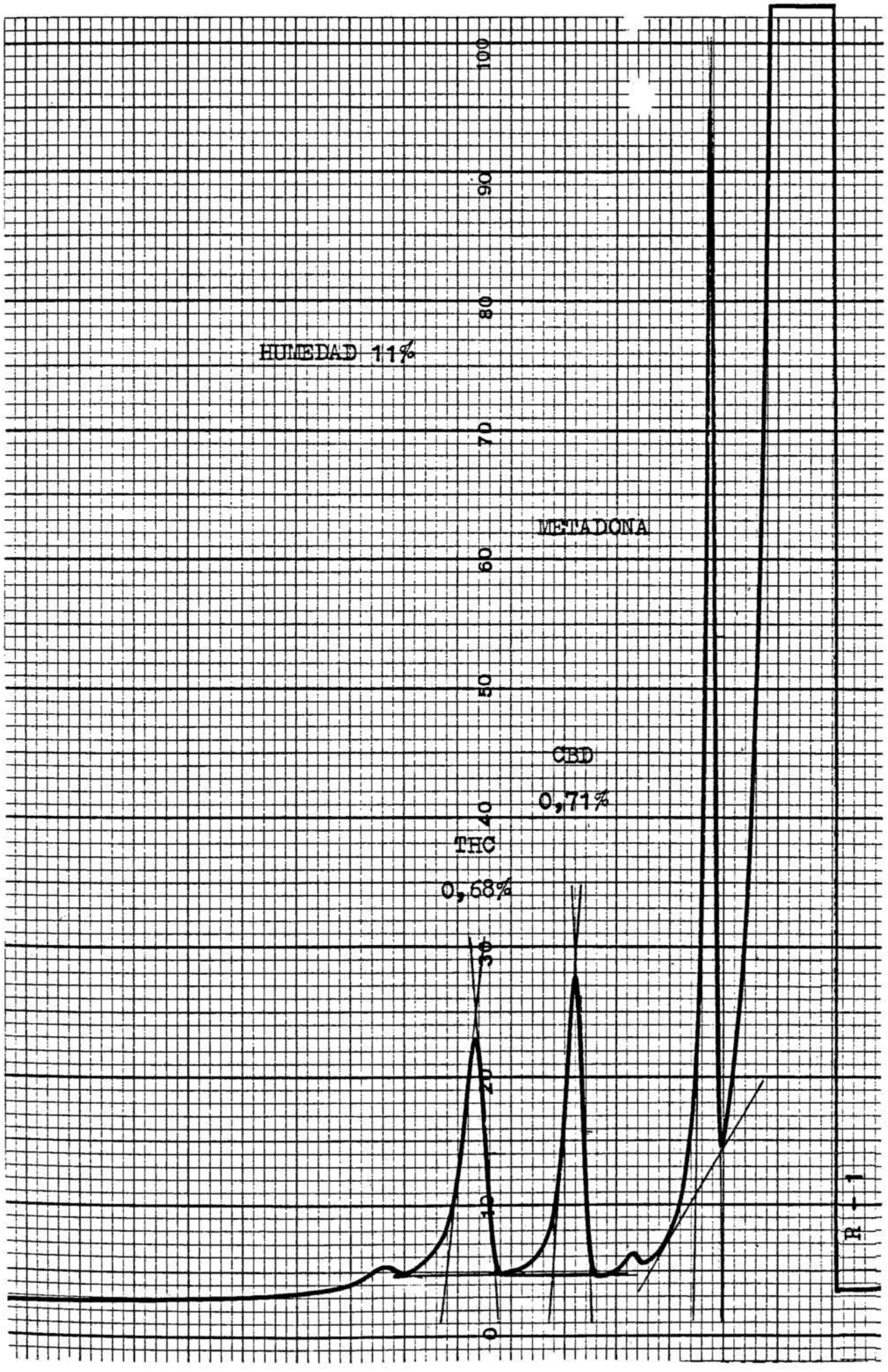
FIGURA 15

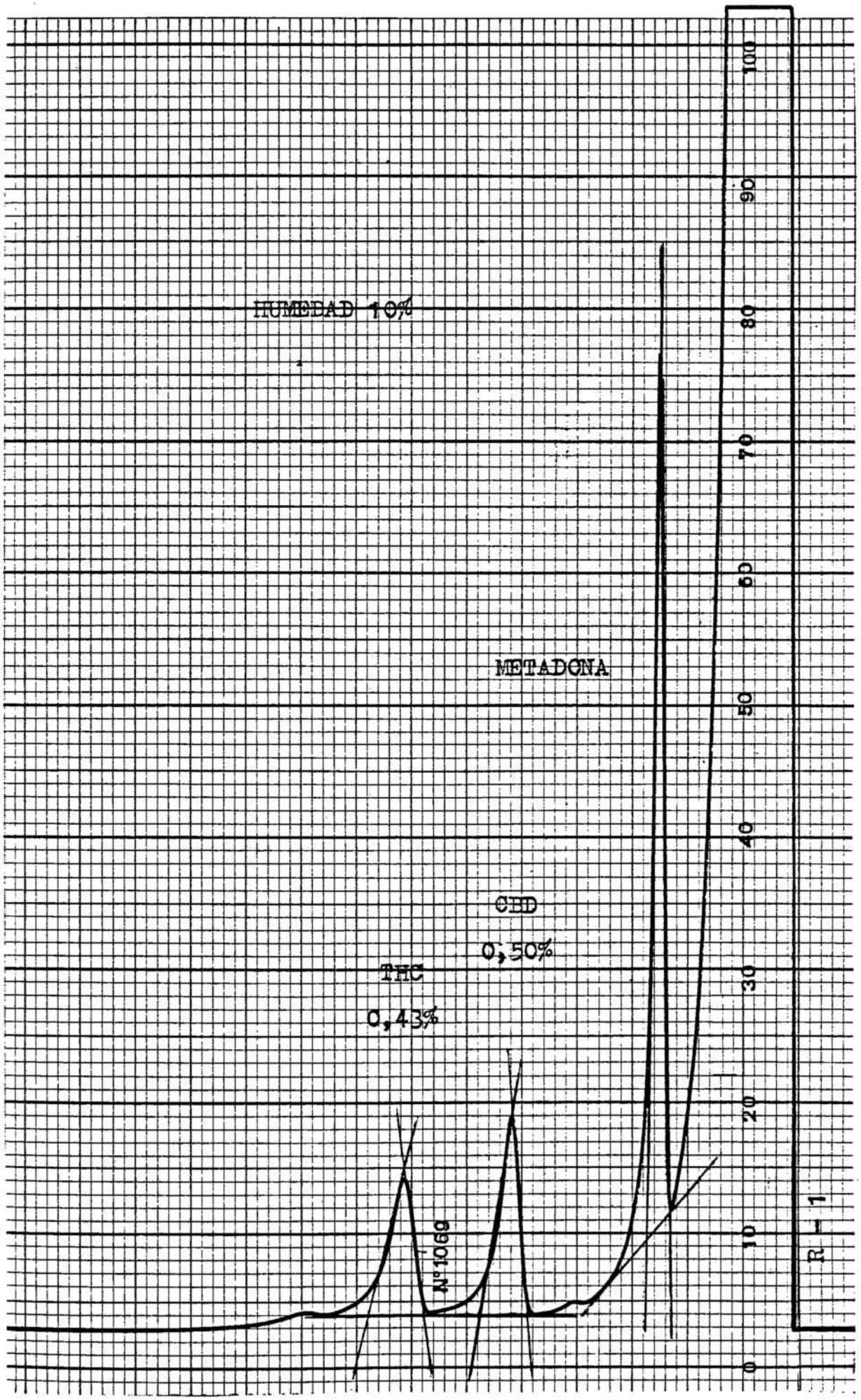
R - 4

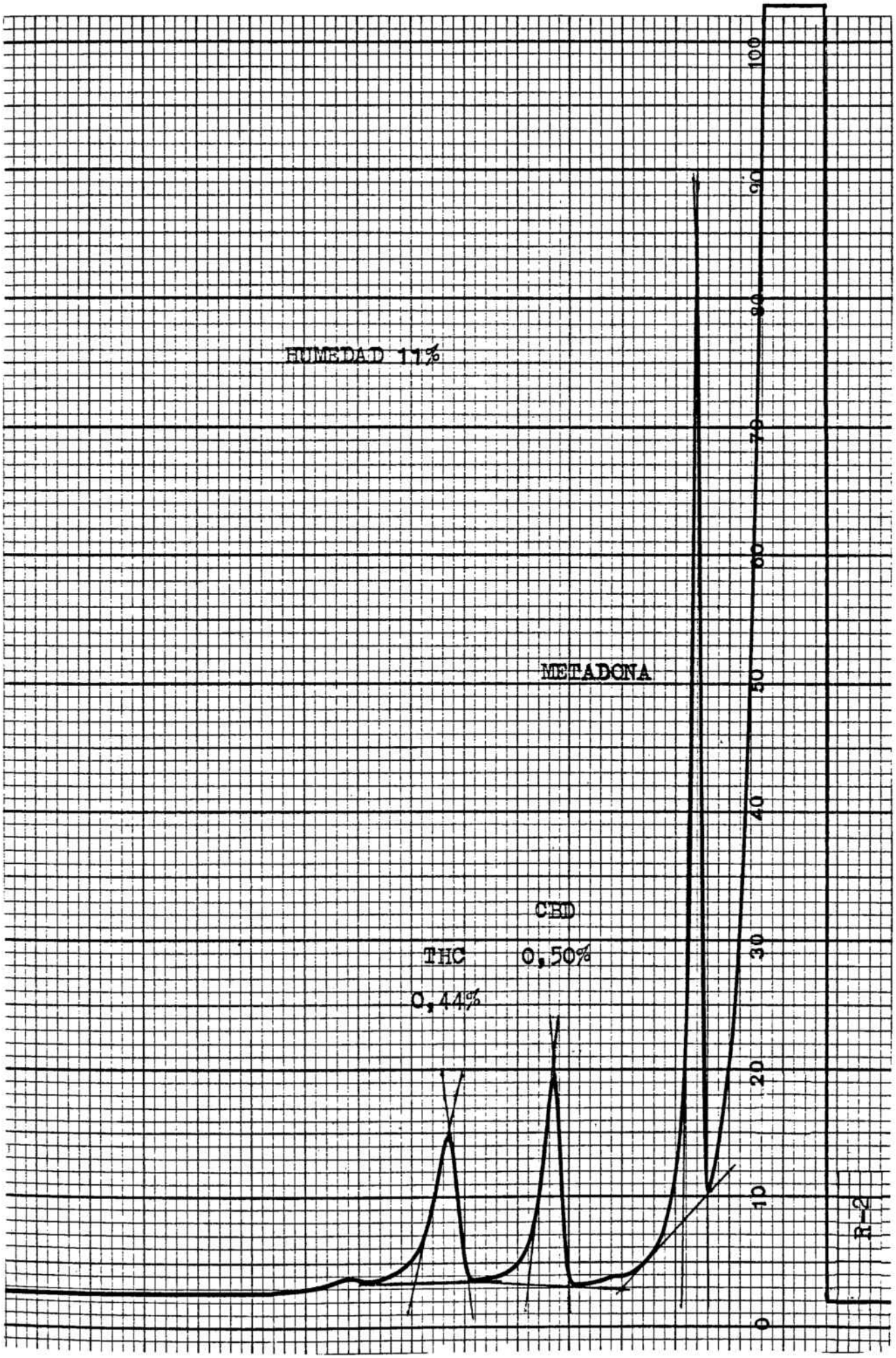

% THC
Y = 0,777X + 0,084
r = 0,961
2,0
1,9
1,8
1,7
1,6
1,5
1,4
1,3
1,2
1,1
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,2 0,3 0,4 0,5 0,6 0,7 0,8 0,9 1,0 1,1 1,2 1,3 1,4 1,5 1,6 1,7 1,8 1,9 2,0 2,1
% CBD

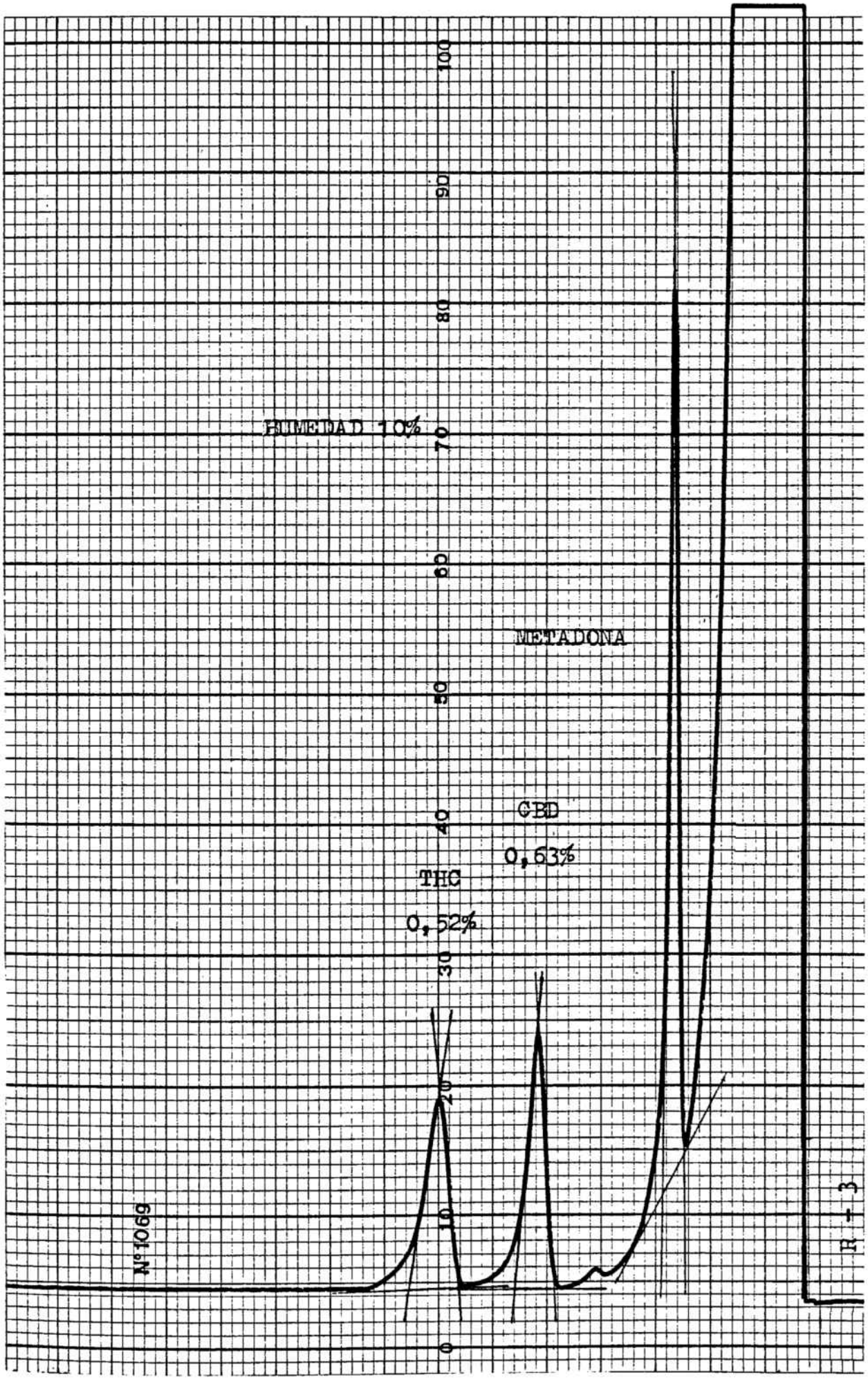
CROMATOGRAMAS


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
HUMEDAD 10%
METADONA
CBD
0,42%
THC
0,44%
Nº1069
CONTROL
20


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
HUMEDAD 11%
METADONA
CBD
0,71%
THC
0,68%
R - 1


HUMEDAD 10%
METADONA
CBD
0,50%
THC
0,43%
Nº 1069
R - 1
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0


HUMEDAD 11%
METADONA
CBD
THC
0,50%
0,44%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
R-2


100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
HUMEDAD 10%
METADONA
CBD
0,63%
THC
0,52%
Nº1096
R - 3

CONCLUSIONES

1.- Se ha comprobado el comportamiento de Cannabis sativa L. como planta de día corto. La floración tiene lugar siempre en una época concreta, caracterizada por ser ésta de fotoperíodo decreciente con independencia de la fecha de siembra, dentro de unos márgenes determinados.

2.- En el transcurso de las distintas experiencias se ha observado una reafirmación de los quimiotipos como tales. Los individuos del quimiotipo III presentan siempre un incremento de la relación THC/CBD, al contrario de lo que sucede con los del quimiotipo II. Para los individuos del quimiotipo I dicha relación no sufre variaciones significativas.

3.- Si la siembra y posterior crecimiento tienen lugar en una época de fotoperíodo decreciente, las plantas florecen rápidamente, alcanzando poco desarrollo vegetativo, siendo su contenido en cannabinoides elevado.

4.- En los individuos sometidos a un fotoperíodo inicial creciente y luego decreciente, la inducción de la floración es más tardía, y su crecimiento mayor. Asimismo la presencia de THC y CBD es inferior. En consecuencia, es conveniente una siembra temprana a finales de Abril o principios de Mayo para la utilización del cáñamo como productor de fibras.

5.- Se ha constatado el valor de la DL_{50}, para las radiaciones γ, como ligeramente inferior a 15.000 Rads. (14.200).

6.- En general, se observa que a mayor dosis de radiación γ, corresponde una mayor riqueza en cannabinoides.

7.- Si se parte de individuos del quimiotipo III, la conversión al quimiotipo I es tanto menor cuanto mayor sea la radiación que éstos reciban.

8.- A dosis de radiación γ muy elevadas (20.000 Rads.), el incremento en el contenido de CBD es muy superior al de THC, siendo entonces notablemente mayor la conversión a quimiotipo I.

9.- En estas pruebas de radiación no tiene lugar la transformación a quimiotipo II, ya que se produce una constante elevación en la tasa de THC.

10.- Al no aparecer prácticamente el quimiotipo II, se demuestra que es válida la identificación de los individuos del quimiotipo III por exclusión de los del quimiotipo I.

11.- El empleo de los rayos γ no es adecuado para la obtención de plantas de cáñamo destinadas a la producción de fibras.

BIBLIOGRAFIA

Botánica e Histología.-

ANDRÉ C. Y VERACRUYSSE A., (1.976).- "Histochemical study of the stalked glandular hairs of the female Cannabis plants, using fast blue salt". Planta medica, 29, 361-6 pp.

CADEVALL Y DIARS J., (1.933).- "Flora de Catalunya". Publicación de la sección de ciencias del Institut d'Estudis Catalans, 5, 162-4 pp.

CRETÉ P., (1.965).- "Précis de Botanique sistematique". Vol. II. Ed. Masson & Cie. 100-5 pp.

DE PASQUALE A., (1.974).- "Ultraestructure of the Cannabis sativa glands". Planta medica, 25, 238-48 pp.

FONT QUER P., (1.962).- "Plantas medicinales. El Dioscórides renovado". Ed. Labor. 127-9 pp.

LOSA, RIVAS, MUÑOZ Y MEDINA, (1.961).- "Tratado elemental de Botánica descriptiva". II Fanerogamia. 3ª ed. 137-9 pp.

MALINGRÉ T., HENDRICKS S., BATTERMAN S., BOS R. Y VISSE J., (1.975).- "The essential oil of Cannabis sativa". Planta medica, 28, 56-61 pp.

STAHL E., (1.975).- "Analyse chromatographique et microscopique des drogues". Entreprise Moderne d'Edition, 138-41 pp.

STRASBURGER E., NOLL F., SCHENCK H. Y SCHIMPER A.F.W., (1.974).- "Tratado de Botánica". 6ª ed. Ed. Marín. 666 p.

VERDEJO VIVAS G., (1.973).- "Archivos del Instituto de Aclimatación". Vol. XVIII. C.S.I.C. 9-60 pp.

Farmacoergasia.-

DAJOZ R., (1.974).- "Tratado de Ecología". Ed. Mundi-prensa. 43-150 pp.

DELACROIX J. Y MAUBLANC A., (1.931).- "Enfermedades de las plantas cultivadas". 2ª ed. Ed. Salvat. 207-436 pp.

DEMOLON A., (1.966).- "Crecimiento de los vegetales cultivados. Principios de Agronomía". Ed. Omega. 319-460 pp.

DUCHAUFOUR P., (1.975).- "Manual de Edafología". 1ª ed. Ed. Toray-Masson. 84-237 pp.

ESCOUROU G., (1.978).- "Climatologie practique". Collection géographie. Ed. Masson & Cie. 47-63 pp.

FOURNIER G., PARIS M.R. Y PARIS R.R., (1.976).- "Aperçu de la production de Chanvre en France". Académie d'Agriculture de France. 1.262-70 pp.

FOURNIER G. Y PARIS M.R., (1.980).- "Determination de chimiotypes a partir des cannabinoïdes chez le Chanvre à fibres monoïque (Cannabis sativa L.). Possibilités de sélection". Physiol. Vég., 18 (2), 349-56 pp.

MALDONADO A., CAMARASA J.M., FOLCH R., MASALLES R.M. Y VELASCO E., (1.977).- "Sistemas naturals del delta de l'Ebre". Institució Catalana d'Història Natural, 51-101 pp.

MARGALEF R., (1.974).- "Ecología". 1ª ed. Ed. Omega. 99, 198 pp.

SOLÉ Y SABARIS L., (1.968).- "Geografía de Cataluña". Vol. III. Ed. Aedos. 141-68 pp.

Fitoquímica.-

BOUCHER F., COSSON L., UNGER J. Y PARIS M.R., (1.974).- "Le Cannabis sativa L.: Races chimiques ou variétés". Pl. méd. et phyt., 8 (1), 20-31 pp.

BRAUT-BOUCHER F., (1.978).- "Étude écophysiologique et chimique du Cannabis sativa L. cultivé en phytotron. Mise en évidence d'un type chimique nouveau chez un Chanvre originaire d'Afrique du Sud". Thèse Doct. d'État, Univ. Paris XI. 146 pp.

BRAUT-BOUCHER F., FOURNIER G., COSSON L. Y PARIS M.R., (1.980).- "Multiplicité des chimiotypes chez le Cannabis sativa L.". Planta medica, 255 p.

EISOHY H.N., EL-FERALY F.S. Y TURNER C.E., (1.977).- "Isolation and characterization of (+)-Cannabitriol and (-)-10-ethoxy-9-hydroxy-Δ^{6a}[10a]-THC: Two new cannabinoids from Cannabis sativa L. extract". Lloydia, 40 (3), 275-80 pp.

EISOHY H.N. Y TURNER C.E., (1.982).- "Iso-Cannabispiran, a new spiro compound isolated from panamenian variant of Cannabis sativa L.". Experientia, 38, 229 p.

FETTERMAN P.S., KEITH E.S., WALLER C.W., GUERRERO O., DOORENBOS N.J. Y QUIMBY M.W., (1.971).- "Mississippi-grown Cannabis sativa L.: Preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in Tetrahydrocannabinol content versus age, sex and plant part". J. Pharm. Sci., 60 (8), 1.246-9 pp.

FOURNIER G., (1.979).- "Le Chanvre à fibres: Cannabis sativa L., Cannabinacées.- Étude chimique: Cannabinoïdes, huile essentielle et acides gras. Mise en évidence de types chimiques". Thèse Doct. d'État, Univ. Paris-Sud, 369 p.

FOURNIER G. Y PARIS M.R., (1.979).- "Le Chanvre papetier (Cannabis sativa L.) cultivé en France: le point sur ses constituants". Pl. méd. et phyt., XIII (2), 116-21 pp.

FOURNIER G. Y PARIS M.R., (1.980).- "Determination de chimiotypes à partir des cannabinoïdes chez le Chanvre à fibres monoïque (Cannabis sativa L.). Possibilités de sélection". Physiol. Vég., 18 (2), 349-56 pp.

GRLIC L., (1.968).- "A combined spectrophotometric differentiation of samples of Cannabis". Bull. Narc., 20-5 pp.

HEMPHILL J.K., TURNER J.C. Y MAHLBERG P.G., (1.980).- "Cannabinoid contents of invidual plants organs from different geographical strains of Cannabis sativa L.". Lloydia, 43 (1), 112-22 pp.

IGLESIAS ANGLÈS J., (1.981).- "Consideracións sobre el contingut en cannabinoides i alcaloides en cànems de cultiu". Discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia de Barcelona. 32 pp.

MECHOULAM R., NEIL K., MCCALLUM N.K. Y BURSTEIN S., (1.975).- "Recent advances in the chemistry and biochemistry of Cannabis". Chem. rev., 76 (1), 75-112 pp.

MOLE M.L. Jr. Y TURNER C.E., (1.974).- "Phytochemical screening of Cannabis sativa L. I: Constituents of an indian variant". J. Pharm. Sci., 63 (1), 154-6 pp.

SMALL E. Y BECKSTEAD H.D., (1.973).- "Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of Cannabis". Lloydia, 36 (2), 144-65 pp.

SHOYAMA Y., MORIMOTO S., NISHIOKA I., (1.981).- "Cannabis XIV. Two new propyl camnabinoids, Cannabicyclovarin and Δ^7-cis-iso-Tetrahydrocannabivarin, from thai Cannabis". Chem. Pharm. Bull., 29 (12), 3.720-3 pp.

TURNER C.E., ELSOHY M.A. Y BOEREN E.G., (1.980).- "Constituents of Cannabis sativa L. XVII. A review of the natural constituents". Lloydia, 43 (2), 169-234 pp.

TURNER C.E., ELSOHY M.A., CHENG P.C. Y LEWIS G., (1.978).- "Constituents of Cannabis sativa L. XIV. Intrinsec problems in classifying Cannabis

based on a single cannabinoid analysis". Lloydia, 42 (3), 317-9 pp.

TURNER C.E., MOLE M.L., HANUS L. Y ELSOHY H.N., (1.981).- "Constituents of Cannabis sativa L. XIX. Isolation and structure elucidation of Cannabiglendol, a novel cannabinoid from a indian variant". Lloydia, 44 (1), 27-33 pp.

VIEIRA J.E.V., NICOLAU M., AUCELIO J.G. Y VALLE J.R., (1.977).- "Vegetative growth of Cannabis sativa and presence of cannabinoids". Bull. Narc., XXIX (3), 75-6 pp.

VREE T.B., BREIMERD D., VAN GINNEKEN C.A.M., VAN ROSSUM J.M., DE ZEEUM R.A. Y WITTE A.H., (1.972).- "Identification in hashish of Tetrahydrocannabinol, Cannabidiol and Cannabinol analogues with a methyl side-chain". J. Pharm. Pharmacol., 24, 7-12 pp.

Farmacología.-

ADZET PORREDÓN T., (1.977).- "Consideraciones en torno a los alucinógenos". Discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia de Barcelona. 5-69 pp.

AGURELL S., CARLSSON S., LINDGREN J.E., OHLSSON A., GILLESPIE H. Y HOLLISTER L., (1.981).- "Interactions of Δ^1-Tetrahydrocannabinol with Cannabinol and Cannabidiol following oral administration in man. Assay of Cannabinol and Cannabidiol by mass fragmentography". Expe-

rientia, 37, 1.090-1 pp.

BURSTEIN S., LEVIN E. Y VARANELLI C., (1.973).- "Prostaglandins and Cannabis. Inhibition of biosynthesis by the naturally occurring cannabinoids". Biochem. Pharmacol., 22, 2905-10 pp.

CAMÍ J., (1.981).- "La marihuana: efectes sobre l'organisme humà". Ciència, 2 (12), 40-7 pp.

CARLINI E.A., LEITE J.R., TANNAHAUSER M. Y BERARDI A.C., (1.973).- "Cannabidiol and Cannabis sativa protect mice and rats againts convulsive agent". J. Pharm. Pharmacol., 25, 664-5 pp.

CORMIER D. Y REID N., (1.979).- "La dependance de la personalité dans la pharmacodependance". Drugs and Alcohol Dependence, 4, 475-87 pp.

DAVIES B.M., WEATHERSTONE R.M., GRAHAM J.D.P. Y GRIFFITHS R.D., (1.974).- "A pilot study of orally administered Δ^1-trans-Tetrahydrocannabinol in the management of patients undergoing radiotherapy for carcinoma of the bronchus". Brit. J. Clin. Pharmacol., 1, 301-6 pp.

GOODMAN L.S. Y GILMAN A., (1.978).- "Bases farmacológicas de la Terapéutica". 5ª ed. Ed. Interamericana. 240-69 pp.

HOLLISTER L.E., (1.974).- " Structure-activity relationship in man of Cannabis constituents and homologues and metabolites of Δ^9-Tetrahydrocannabinol. Pharmacology, II, 12-32 pp.

KARLER R., CELY W. Y TURKANIS S.A., (1.973).- "The anticonvulsivant activity of Cannabidiol and Canna-

binol". Life Sci., 13 (11), 1.527-30 pp.

KARNIOL I.G. Y CARLINI E.A., (1.972).- "The content of (-)-Δ^9-trans-Tetrahydrocannabinol (Δ^9-THC) does not explain all biological activity of some brazilian marihuana samples". J. Pharm. Pharmacol., 24, 833-5 pp.

KAYMAÇALAN S., (1.981).- "Potencial toxicomanígeno del Cannabis". Bol. Estup., XXXIII (2), 21-32 pp.

LAPORTE SALAS J., (1.976).- "Les drogues". Monografías médicas, nº 13. Ed. 62. 101-21 pp.

LEIGHTY E.G., (1.979).- "Comparison of the effects of 11-palmitoyloxy-Δ^9-Tetrahydrocannabinol with Δ^9-Tetrahydrocannabinol and 11-hydroxy-Δ^9-Tetrahydrocannabinol on the hepatic microsomal drug-metabolizing enzyme system". Res. Comm. Chem. Path. and Pharmacol., 25 (3), 525-35 pp.

LIPTON M.A., DI MASIO A. Y KILLAM K.F., (1.982).- "Psicofarmacología". Ed. Espax. 1.737-833 pp.

MECHOULAM R. Y LANDER N., (1.980).- "Cannabis: a possible source of new drugs". Pharm. Int., 1 (1), 19-207 pp.

MECHOULAM R., (1.981).- "Current status of therapeutic opportunities based on cannabinoid research an overview". J. Clin. Pharmacol., 21, 2S-7S pp.

MELTZER P.C., DALZELL H.C. Y RAZDAN R.K., (1.981).- "Drugs derived from cannabinoids. Part 8. The syn-

thesis of side-chain analogues of $\Delta^{6a,10a}$-Tetrahydrocannabinol". J. Chem. Soc., 11, 2.825-9 pp.

NEUMEYER J.L. Y SHAGOURY R.A., (1.971).- "Chemistry and pharmacology of marihuana". J. Pharm. Sci., 60, 1.433 p.

SOFIA R.D., DELGADO C.J. Y DOUGLAS J.F., (1.974).- "The effects of various naturally occurring cannabinoids on hypotonic hyperthermic lysis of rat erythrocytes". Eur. J. Pharmacol., 27, 155-7 pp.

SWEET D.L., LUCAS V.S. Y LASZLO J. y Jr., (1.980).- "Δ^9-Tetrahydrocannabinol against nausea and vomiting". Pharm. Int., I (10), iii p.

TAYLOR D.A. Y FENNESSY M.R., (1.978).- "Antagonist-precipitated withdrawal in the rat after chronic Δ^9-Tetrahydrocannabinol treatment". J. Pharm. Pharmacol., 30, 654-6 pp.

YISAK W., AGURELL S., LINDGREN J.E. Y WIDMAN M., (1.978).- "In vivo metabolites of cannabinol identified as fatty acid conjugates". J. Pharm. Pharmacol., 30, 462-3 pp.

YISAK W., WIDMAN M. Y AGURELL S., (1.978).- "Acidic in vivo metabolites of Cannabinol isolated from rat faeces". J. Pharm. Pharmacol., 30, 554-7 pp.

WIRTH PH.W., MURPHY J.C., EL-FERALY F.S. Y TURNER C.E., (1.981).- "Constituents of Cannabis sativa L. XXI:

Estrogenic activity of a non-cannabinoid constituent". Experientia, 37, 1.181-2 pp.

Metodología del análisis.-

BRAUT-BOUCHER F., (1.978).- "Étude écophysiologique et chimique du Cannabis sativa L. cultivé en phytotron. Mise en évidence d'un type chimique nouveau chez un Chanvre originaire d'Afrique du Sud". Thèse Doct. d'État, Univ. Paris XI. 146 pp.

COLL FORNAGUERA M.R., (1.982).- "Evolució del contingut de cannabinoides en varietats diòiques i en híbrids (dioic x monoic) de Cannabis sativa L.". Tesina. Facultad de Farmacia de Barcelona. 133 pp.

DABRIO M.V., (1.973, 1.979).- "Cromatografía de gases". Vol. I y II. Ed. Alhambra. 4-5 pp. 118-78 pp.

FOURNIER G., (1.979).- "Le Chanvre à fibres: Cannabis sativa L., Cannabinaceés.- Étude chimique: Cannabinoïdes, huile essentielle et acides gras. Mise en évidence de types chimiques". Thèse Doct. d'État, Univ. Paris-Sud. 369 pp.

PARIS M.R. Y DEMESY D., (1.971).- "Nouvelles méthodes d'identification et d'evaluation de l'activité du Cannabis". Pl. méd. et phyt., V (1), 28-38 pp.

PARIS M.R. Y EL MOUNAJJED D., (1.973).- "Isolement de deux constituants (acide Cannabidiolique et Tetrahydrocannalinolique) du Cannabis sativa

L. par chromatographie préparative sur couche mince". Ann. Pharm. Fr., 31 (3), 181-8 pp.

RASMUSSEN K.E., RASMUSSEN S. Y BAERHEIN A., (1.972).- "Determination quantitative des cannabinoids dans des micro-quantités de Cannabis par la chromatographie gaz-liquide et l'injection d'echantillons solides". Lab. stup. N.U. ST/SOA/SER.S/35 GE. 72-17092.

SMALL E. Y BECKSTEAD H.D., (1.973).- "Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of Cannabis". Lloydia, 35, 145-65 pp.

SMITH R.N. Y VAUGHAN C.G., (1.977).- "The decomposition of acidic and neutral cannabinoids in organic solvents". J. Pharm. Pharmacol., 29, 286-90 pp.

TRANCHANT J., BUZON N., GUICHARD G., GUIOCHON G., LEBBE J., PREVOT A. Y SERPINET J., (1.964).- "Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse". Ed. Masson & Cie. 134 p.

TURNER C.E., HADLEY K.W., HENRY J., JANIS H. Y MOLE M.L., (1.974).- "Constituents of Cannabis sativa L. VII: Use of silyl derivatives in routine analysis". J. Pharm. Sci., 63 (12), 1.872-6 pp.

TURNER C.E. Y HENRY J., (1.975).- "Constituents of Cannabis sativa L. IX: Stability of synthetic and naturally occurring cannabinoids in chloro-

form". J. Pharm. Sci., 64 (2), 357-9 pp.

VALLS BIOSCA M., (1.977).- "Aportación al estudio de los fitoconstituyentes alucinógenos en cultivos de Cannabis sativa L.". Tesina. Facultad de Farmacia de Barcelona. 134 pp.

VALLS O., (1.978).- "Técnicas instrumentales en Farmacia".Vol. II. 1ª ed. Ed. Docinfarma. 517-66 pp.

Fotoperíodo.-

BARCELÓ C.J., NICOLÁS R.G., SABATER G.B. Y SÁNCHEZ T.R., (1.980).- "Fisiología Vegetal". 1ª ed. Ed. Pirámide. 575-612 pp.

BASTIN R., (1.970).- "Tratado de Fisiología Vegetal". 1ª ed. Ed. C.E.C.S.A. 376-89 pp.

DEVLIN R.M., (1.970).- "Fisiología Vegetal". 1ª ed. Ed. Omega. 529-47 pp.

EVANS L.T., (1.971).- "Flower induction and the florigen concept". Ann. Rev. Plant Physiol., 22 (7516), 365-94 pp.

FAIRBAIRN J.W. Y LIEBMANN J.A., (1.973).- "The extraction and estimulation of the cannabinoids in Cannabis sativa L. and its products". J. Pharm. Pharmacol., 25, 150-5 pp.

HENDRICKS S.B., (1.964).- "Photochemical aspects of plant photoperiodicity". Photophysiology, 1, 305-31 pp.

MEYER B.S., ANDERSON D.B., BOHNING R.H. Y FRATIANNE D.G., (1.973).- "Introduction to plant physiology". 2ª ed. Ed. Litton Educational Publishing Inc. 481-523 pp.

NAYLOR A.W. Y LOCKHART J.A., (1.961).- "The photoperiodic control of plant behavior". Encyclopedia of Plant Physiology, XVI, 331-438 pp.

SALISBURY F.B., (1.981).- "Responses to photoperiod". Physiological Plant Ecology I. Encyclopedia of Plant Physiology, 12A, 133-67 pp.

VALLE J.R., VIEIRA J.E.V., AUCELIO J.G. Y VALIO I.F.M., (1.978).- "Influence du photopériodisme sur la teneur en cannabinoïdes du Cannabis sativa L.". Bull. Stup., XXX (1), 69-70 pp.

VICENTE CORDOBA C., (1.976).- "Fisiología Vegetal". 1ª ed. Ed. Blume. 389-94 pp.

VINCE-PRUE D., (1.981).- "Plants and the daylight spectrum". 223-44 pp.

WAREING P.F. Y PHILLIPS I.D.J., (1.978).- "The control of growth and differentiation in plants". 2ª ed. Ed. Pergamon Press. 183-226 pp.

Genética, Bioestadística y Biofísica.-

DUTREIX J., DESGREZ A., BOK B. Y CHEVALIER C., (1.980).- "Física y Biofísica: Radiaciones". Ed. AC. 60-71 pp.

GUTIERREZ CABRIA S., (1.978).- "Bioestadística". 2ª ed. Ed. Tebar Flores. 47-71 pp.

LACADENA J.R., (1.970).- "Genética Vegetal: Fundamentos y su aplicación ". 2ª ed. 183-208 pp.

SANCHEZ MONGE E., (1.974).- "Fitogenética. La mutagénesis artificial". Inst. Nac. de Inv. Agr. Ministerio de Agricultura. 381-95 pp.