

# Efecto fitotóxico de *Baccharis ulicina* sobre la germinación y crecimiento inicial de *Avena sativa*, *Lolium perenne* y *Raphanus sativus*

## Allelopathic effect of *Baccharis ulicina* on germination and initial growth of *Avena sativa*, *Lolium perenne* and *Raphanus sativus*

Guillermo Tucat <sup>1</sup>	María de la Merced Mujica <sup>4</sup>	Gustavo Rodríguez <sup>5</sup>
Diego Bentivegna <sup>1</sup>	Yanina Torres <sup>2</sup>	Oscar Montenegro <sup>5</sup>
Osvaldo Fernández <sup>2</sup>	Juan Daddario <sup>1</sup>	Sandra Baioni <sup>3</sup>
Carlos Busso <sup>2</sup>	Leticia Ithurrart <sup>2</sup>	José Entío <sup>4</sup>
Roberto Brevedan <sup>3</sup>	Hugo Giorgetti <sup>5</sup>	María Nélica Fioretti <sup>3</sup>

Originales: Recepción: 23/05/2012 - Aceptación: 22/11/2012

### RESUMEN

*Baccharis ulicina* es una maleza ampliamente distribuida en los pastizales de la zona semiárida argentina. A fin de evaluar sus posibles efectos alelopáticos, se utilizaron extractos acuosos de *B. ulicina* (hoja, tallo, raíz y planta entera) a dos concentraciones (50 y 150 g tejido/L agua) sobre la germinación y crecimiento inicial de *Avena sativa*, *Lolium perenne* y *Raphanus sativus*. Para cada especie se regaron 100 semillas y se mantuvieron a 25°C y oscuridad. Se registraron la germinación de las semillas y la longitud de coleóptilo / hipocótilo (C/H) y radícula (R). Con los datos obtenidos se determinó: porcentaje de germinación, coeficiente de velocidad de germinación, vigor de la germinación, inhibición de la germinación, inhibición de la longitud de la radícula y del coleóptilo / hipocótilo e índice de vigor de radícula y de coleóptilo / hipocótilo. Los extractos con alta concentración redujeron la germinación en promedio 65% mientras que

### ABSTRACT

*Baccharis ulicina* is a weed widely distributed in pastures of the semiarid zone of Argentina. With the aim of evaluate potential allelopathic effects, aqueous extracts of *B. ulicina* (leaf, stem, root and whole plant) at two concentrations (50 and 150 g tissue/L water) were used on germination and initial growth of *Avena sativa*, *Lolium perenne* and *Raphanus sativus*. For each species, 100 seeds were watered and maintained at 25°C at darkness. Seed germination and length of coleoptile / hypocotyl (C/H) and radicle (R) was measured. Then, germination percentage, germination rate coefficient, germination vigor, inhibition of germination, inhibition of radicle length and coleoptile / hypocotyl length, radicle vigor index and the coleoptile / hypocotyl vigor index were calculated. High concentration extracts reduced germination an average of 65%, in addition, they produced a length inhibition of 58.8% (C/H) and 93.3% (R) to *A. sativa*,

- 1 Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CONICET). (8000) Bahía Blanca. Buenos Aires. Argentina. gtucat@criba.edu.ar
- 2 Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CONICET). Dpto. de Agronomía. Universidad Nacional del Sur. (8000) Bahía Blanca. Argentina.
- 3 Dpto. de Agronomía. Universidad Nacional del Sur. (8000) Bahía Blanca. Argentina.
- 4 Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Av. 60 y 119 s/n. (1900) La Plata. Buenos Aires. Argentina.
- 5 Chacra Experimental de Patagones. Ministerio de Asuntos Agrarios. (8504) Carmen de Patagones. Buenos Aires. Argentina.

inhibieron la longitud en 58,8% (C/H) y 93,3% (R) para *A. sativa*, 71,5% (C/H) y 87,9% (R) para *L. perenne*, y 93,8% (C/H) y 94,5% (R) para *R. sativus*. Se registró un evidente efecto fitotóxico de *B. ulicina* sobre las especies evaluadas, indicando que la alelopatía sería una estrategia ecológica de la especie.

71.5% (C/H) and 87.9% (R) to *L. perenne*, and 93.8% (C/H) and 94.5% (R) to *R. sativus*. There was an evident phytotoxic effect of *B. ulicina* on evaluated species, indicating that allelopathy would be an ecological strategy of the species.

### Palabras clave

*Baccharis ulicina* • alelopatía • germinación

### Keywords

*Baccharis ulicina* • allelopathy • germination

## INTRODUCCIÓN

La producción ganadera argentina, con una existencia de 48 millones de cabezas, es una de las más importantes a nivel mundial (29). Debido a la mayor rentabilidad de la agricultura en los últimos años, una alta proporción de la actividad ganadera se ha desplazado hacia las regiones más marginales del país, fundamentalmente pastizales de la zona semiárida, abarcando principalmente el Sur de la provincia de Buenos Aires, Río Negro, La Pampa, San Luis, Norte de Córdoba y Norte de Santa Fe (23). En dichos ecosistemas, *Baccharis ulicina* Hook. & Arn. (Asteraceae) ha alcanzado una elevada cobertura (6), convirtiéndose en una importante maleza ya que dicha especie no es consumida por el ganado bovino.

*B. ulicina*, conocida como "yerba de la oveja", es un subarbolito ramoso, glabro, perenne, de 40-80 cm de altura. Las hojas, entre 15 y 35 mm de largo, son de contorno oblongo y profundamente pinatisectas. Los tallos son estriados y con hojas hasta el ápice (14). Usualmente son erectos, aunque ocasionalmente los tallos basales pueden extenderse superficialmente con capacidad de originar raíces y ramificaciones, lo que le permite expandirse y conformar plantas de gran tamaño. Se trata de una especie dioica con numerosos capítulos cortamente pedicelados que se disponen en los extremos de los tallos formando cimas corimbiformes. Los frutos son aquenios de menos de 5 mm de longitud y poseen en la porción apical un cáliz modificado, el papus, que facilita su dispersión por el viento (7).

Existen algunas evidencias que sugieren la posibilidad de que *B. ulicina* ejerza un efecto alelopático sobre las demás especies del pastizal natural de la región semiárida. Primeramente se han documentado diversos casos de efectos alelopáticos generados por plantas del género *Baccharis* (8, 21). Hasta la fecha más de 100 especies de *Baccharis spp.* han sido investigadas químicamente (1, 11, 12). En Argentina se han registrado casos de especies de *Baccharis spp.* con efecto alelopático sobre la germinación de otras plantas (4) y efectos tóxicos para el ganado (27). Por otro lado, *B. ulicina* ha alcanzado una gran distribución (24) debido a una fuerte exclusión de otras especies, lo cual soportaría la producción de sustancias alelopáticas.

Se define alelopatía a un proceso natural que envuelve la producción de un metabolito secundario (aleloquímico) por las plantas, microorganismos, virus u hongos, que una vez liberado al ambiente influye sobre el crecimiento y desarrollo de sistemas agrícolas o biológicos, excluidos los animales (20).

En las plantas, los aleloquímicos son sustancias producidas en los procesos intermedios o finales del metabolismo secundario (25). Las sustancias alelopáticas poseen la capacidad de inhibir la germinación de semillas de otras especies, así como de interferir en el crecimiento y desarrollo de plantas vecinas (18). Su liberación puede ser a través de la exudación de las raíces, lixiviación de sustancias por lluvia o rocío, volatilización o descomposición de los tejidos (13).

Las sustancias alelopáticas una vez introducidas en el medio ambiente requieren de la acumulación en cantidades suficientes para afectar a otros individuos, y permanecer por un tiempo determinado o ser puestas en libertad continuamente, de manera que los efectos sean persistentes (28). La eficacia del efecto alelopático de las malezas sobre el crecimiento de otras plantas varía según cada especie; inclusive, diferentes partes de una misma maleza pueden diferir en su capacidad para producir alelopatía (30, 33). La generación de efecto alelopático es un mecanismo importante para la propagación exitosa de algunas malezas (26). En efecto, se ha sugerido como un mecanismo utilizado por plantas invasoras para controlar la capacidad de propagación de otras especies, y así convertirse en poblaciones dominantes en determinadas comunidades vegetales (10).

## Objetivo

- Dado que no existe información acerca de efectos fitotóxicos de *B. ulicina* sobre la germinación y crecimiento inicial de otras especies, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el posible efecto fitotóxico de la planta entera y sus partes constitutivas sobre la germinación y el crecimiento inicial (tanto de parte aérea como de radícula) de tres especies cultivadas utilizadas como indicadores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Plantas enteras de *B. ulicina* próximas al Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Argentina (38° 39' 58" S, 62° 14' 03" O) fueron cosechadas en estado vegetativo el 5 de octubre de 2010. Posteriormente fueron cuidadosamente lavadas con agua destilada y fraccionadas en hoja, tallo y raíz, mientras que una porción permaneció como planta entera.

Las muestras se dejaron secar a temperatura ambiente por un período de siete días al resguardo de la luz directa y la humedad. Luego fueron trituradas con un molinillo eléctrico logrando un tamaño de tejido inferior a 5 mm. Posteriormente, se colocaron los tejidos procesados (hoja, tallo, raíz y planta entera) en agua destilada a 24°C y a las 24 horas la solución fue filtrada. Para cada tejido se realizaron dos concentraciones:

baja (5%, 50 g L<sup>-1</sup> agua) y alta (15%, 150 g L<sup>-1</sup>). El ensayo incluyó nueve tratamientos consistentes en soluciones de baja y alta concentración de raíz, tallo, hoja y planta entera, junto con un testigo realizado con agua destilada. Las nueve soluciones fueron conservadas en cámara de frío a 5°C hasta su inmediato uso.

Las tres especies cultivadas utilizadas en los ensayos se reconocen como susceptibles a efectos alelopáticos, las mismas fueron: avena (*Avena sativa*), rye grass perenne (*Lolium perenne*) y rabanito (*Raphanus sativus*). *A. sativa* es una planta anual, correspondiente a la clase Monocotyledoneae cultivada en la zona semiárida de Argentina. Por su parte, *L. perenne* taxonómicamente pertenece a la misma clase, con la diferencia que su hábito de crecimiento es perenne al igual que las especies deseables (consumidas por el ganado) de los pastizales de la región de estudio. Finalmente, *R. sativus* representa a la clase Dicotyledoneae. Las semillas fueron previamente esterilizadas superficialmente mediante el sumergimiento en Hipoclorito de Sodio 1% durante 5 minutos y lavado posterior con agua destilada durante 3 minutos (31). Para cada especie fueron utilizadas cuatro réplicas de 25 semillas por tratamiento colocadas en cajas de Petri sobre papel de filtro Whatman n° 1. Al inicio del ensayo se colocaron 10 mL de la solución correspondiente a cada una de las cajas de Petri, luego fueron mantenidas a 25°C y oscuridad en cámaras de crecimiento durante 14 días.

### Efecto alelopático sobre la germinación

La germinación de las semillas fue registrada a los tres, siete y catorce días de comenzado el ensayo, considerando semilla germinada a aquella cuya radícula alcanzaba una longitud mayor a 2 mm. Los datos utilizados para las siguientes determinaciones fueron los acumulativos al finalizar el ensayo (catorce días), a excepción del coeficiente de velocidad de germinación, en el que se emplearon los correspondientes a las tres fechas mencionadas. Con los datos obtenidos se determinaron los siguientes parámetros:

*Porcentaje de germinación (PG)*

$$PG = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Total de semillas}} \times 100 \quad (a)$$

*Coeficiente de velocidad de germinación (CVG)*

Para el cálculo del CVG se utilizó la fórmula de velocidad de germinación propuesta por González-Zertuche y Orozco-Segovia (9), con una variante para obtener el resultado como un coeficiente, donde 0 corresponde a la velocidad mínima y 1 a la velocidad máxima.

$$CVG = \frac{gd3 + 0.5 \times gd7 + 0.1 \times gd14}{tg} \quad (b)$$

donde:

gd3 = semillas germinadas hasta el día 3

gd7 = semillas germinadas entre el día 3 y el día 7

gd14 = semillas germinadas entre el día 7 y el día 14

tg = total de semillas germinadas por muestra

***Vigor de la germinación (VIG)***

El VIG relaciona la cantidad de semillas germinadas con la velocidad a la que germinaron, con el objetivo de contar con un parámetro de evaluación más completo para cuantificar los efectos alelopáticos sobre la germinación.

$$\text{VIG} = \text{PG (1)} \times \text{CVG (2)} \quad (\text{c})$$

***Inhibición de la germinación (IG)***

La IG es la fracción que evalúa la inhibición dentro del Índice de respuesta de Williamson & Richardson (32). En este caso, a los términos de tratamiento y de control les fueron asignados los resultados de VIG obtenidos. La fórmula fue adaptada de manera que la IG tome valores entre 0 y 100, correspondiendo 0 a la mínima inhibición y 100 a la inhibición total.

$$\text{IG} = 1 - \frac{\text{VIG (3) tratamiento} \times 100}{\text{VIG (3) control}} \quad (\text{d})$$

**Efecto alelopático sobre el crecimiento inicial**

***Inhibición de la longitud de la radícula (ILR) y del coleóptilo / hipocótilo (ILC/H)***

A los siete y a los catorce días de comenzado el ensayo, las semillas germinadas durante la semana anterior fueron colocadas en freezer a -10°C por 24 horas para luego medir la longitud de radícula y coleóptilo / hipocótilo. El congelamiento tiene como objetivo evitar el crecimiento posterior durante el proceso de medición y facilitar el manipuleo de las plántulas al momento de ser medidas (16). Con los datos obtenidos se calculó la inhibición del crecimiento de las distintas partes de las plántulas respecto del control en porcentaje.

$$\text{ILR / ILC/H} = \frac{\text{Longitud control} - \text{Longitud tratamiento} \times 100}{\text{Longitud control}} \quad (\text{e})$$

**Efecto alelopático combinado sobre la germinación y el crecimiento inicial**

***Índice de vigor de radícula (IVR) e Índice de vigor de coleóptilo / hipocótilo (IVC/H)***

El IVR es igual al Índice de Vigor de Plántula de Abdul-Baki & Anderson (2), mientras que el segundo es una variante que utiliza la longitud del coleóptilo / hipocótilo en vez de la longitud de la radícula.

$$\text{IVR} = \text{PG (1)} \times \text{Longitud radícula (cm)} \quad (\text{f1})$$

$$\text{IVC/H} = \text{PG} \times \text{Longitud coleóptilo / hipocótilo (cm)} \quad (\text{f2})$$

**Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro réplicas. Los datos fueron procesados a través de un análisis de varianza (ANDEVA), previa evaluación de normalidad (Shapiro-Wilks  $p < 0,05$ ) y homogeneidad de varianza (Levene  $p < 0,05$ ). La comparación de medias se realizó por medio del test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). La totalidad de los análisis se efectuaron utilizando el software estadístico InfoStat (5).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto alelopático sobre la germinación

#### Porcentaje de germinación (PG)

Los extractos de hoja, tallo, raíz y planta entera de *B. ulicina* causaron efectos fitotóxicos sobre la germinación de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus*.

El grado de disminución de la germinación dependió marcadamente de la concentración de las soluciones. En efecto, el 75% de los extractos con baja concentración no disminuyeron el porcentaje de germinación, mientras que todas las soluciones con alta concentración causaron una merma en la germinación, a excepción del extracto de tallo sobre *L. perenne* y *R. sativus*.

Los menores valores de germinación fueron alcanzados en las tres especies por los extractos con alta concentración de raíz y hoja (tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentaje de germinación de semillas de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus* tratadas durante 14 días en extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Los valores corresponden a la media ( $n=4$ )  $\pm$  un desvío estándar.

**Table 1.** Percentage of germination of *A. sativa*, *L. perenne* and *R. sativus* seeds treated during 14 days in aqueous extract of *B. ulicina*. Values are mean ( $n=4$ )  $\pm$  one standard deviation.

Tratamiento	Concentración	Germinación (%)*					
		<i>A. sativa</i>		<i>L. perenne</i>		<i>R. sativus</i>	
Testigo		78,0 $\pm$ 9,52	A	96,0 $\pm$ 5,66	A	89,0 $\pm$ 3,83	AB
Planta entera		73,0 $\pm$ 21,01	A	86,0 $\pm$ 10,07	A	77,0 $\pm$ 8,87	ABC
Tallo	Baja (5%)	38,0 $\pm$ 10,58	B	80,0 $\pm$ 18,76	A	94,0 $\pm$ 7,66	A
Hoja		35,0 $\pm$ 13,61	B	78,0 $\pm$ 22,74	A	89,0 $\pm$ 3,83	AB
Raíz		67,0 $\pm$ 22,95	A	85,0 $\pm$ 12,38	A	68,0 $\pm$ 15,66	C
Planta entera		34,0 $\pm$ 9,52	B	44,0 $\pm$ 29,39	B	34,0 $\pm$ 17,44	D
Tallo	Alta (15%)	25,0 $\pm$ 3,83	BC	74,0 $\pm$ 11,55	A	72,0 $\pm$ 18,18	BC
Hoja		21,0 $\pm$ 6,83	BC	40,0 $\pm$ 34,41	B	27,0 $\pm$ 17,09	D
Raíz		9,0 $\pm$ 7,57	C	14,0 $\pm$ 10,58	C	6,0 $\pm$ 5,16	E

\* Medias seguidas por la misma letra, dentro de una misma columna, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (a), pág. 66.

\* Means followed by the same letter within a column, have no statistical difference test according to Fisher DMS ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (a), page 66.

El extracto de hoja con baja concentración (5%) no disminuyó la germinación de *R. sativus* respecto del testigo.

Contrariamente, Maharjan *et al.* (17) registraron que la germinación de *R. sativus* fue totalmente inhibida al embeber las semillas en soluciones de hoja de *Parthenium hysterophorus* (Asteraceae) con concentraciones de solo 2%.

**Coefficiente de velocidad de germinación (CVG)**

El coeficiente de velocidad de germinación de las especies evaluadas presentó una respuesta inconsistente.

Para *A. sativa* la solución de planta entera con alta concentración fue la que generó mayor efecto inhibitorio, con una diferencia de 0,47 respecto del testigo (tabla 2).

**Tabla 2.** Coeficiente de velocidad de germinación de semillas de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus* tratadas durante 14 días en extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Los valores corresponden a la media ( $n = 4$ )  $\pm$  un desvío estándar.

**Table 2.** Germination rate coefficient of *A. sativa*, *L. perenne* and *R. sativus* seeds treated during 14 days in aqueous extract of *B. ulicina* plants. Values are mean ( $n=4$ )  $\pm$  one standard deviation.

Tratamiento	Concentración	Coeficiente de Velocidad de Germinación*					
		<i>A. sativa</i>		<i>L. perenne</i>		<i>R. sativus</i>	
Testigo		1,00 $\pm$ 0,0	A	0,88 $\pm$ 0,05	A	1,00 $\pm$ 0,00	A
Planta entera		0,85 $\pm$ 0,06	ABC	0,75 $\pm$ 0,10	AB	0,98 $\pm$ 0,05	A
Tallo	Baja (5%)	0,88 $\pm$ 0,1	ABC	0,55 $\pm$ 0,17	BC	1,00 $\pm$ 0,00	A
Hoja		0,95 $\pm$ 0,1	AB	0,60 $\pm$ 0,14	BC	0,93 $\pm$ 0,10	A
Raíz		0,83 $\pm$ 0,1	ABC	0,73 $\pm$ 0,05	AB	0,98 $\pm$ 0,05	A
Planta entera		0,53 $\pm$ 0,1	D	0,75 $\pm$ 0,17	AB	0,88 $\pm$ 0,05	AB
Tallo	Alta (15%)	0,73 $\pm$ 0,1	C	0,45 $\pm$ 0,17	CD	0,93 $\pm$ 0,05	A
Hoja		0,80 $\pm$ 0,22	BC	0,25 $\pm$ 0,21	D	0,73 $\pm$ 0,13	B
Raíz		0,75 $\pm$ 0,19	C	0,38 $\pm$ 0,26	CD	0,50 $\pm$ 0,35	C

\* Medias seguidas por la misma letra, dentro de una misma columna, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (b), pág. 66.

\* Means followed by the same letter within a column, have no statistical difference test according to Fisher DMS ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (b), page 66.

En *L. perenne*, los extractos de hoja, tallo y raíz con alta concentración causaron los menores CVG de germinación, con un promedio de 0,36.

Las semillas de *R. sativus* embebidas con la solución de raíz con alta concentración redujeron a la mitad el CVG respecto del testigo, mientras que el extracto de hoja con alta concentración también causó una merma aunque de menor magnitud (tabla 2).

Rashid *et al.* (22) también registraron importantes disminuciones en la velocidad de germinación de *R. sativus* utilizando soluciones de hoja y raíz de *Pueraria montana* (Asteraceae), aunque empleando una menor concentración (2,5%).

**Vigor de la germinación (VIG)**

En *A. sativa*, todos los extractos generaron una disminución del VIG respecto del testigo. Las soluciones con alta concentración causaron un importante efecto fitotóxico: en ninguno de los tratamientos el VIG superó el 20%.



En *L. perenne* y *R. sativus* los mayores efectos fitotóxicos fueron causados por las soluciones de hoja y raíz con alta concentración. Las mismas disminuyeron los valores de VIG a 69,6 y 75,6% en *L. perenne* y 68,8 y 85,0% en el caso de *R. sativus*, respectivamente.

En esta última especie, los extractos de tallo se caracterizaron por causar, comparativamente con las demás soluciones, un escaso efecto fitotóxico (tabla 3).

**Tabla 3.** Vigor de la germinación (%) de semillas de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus* tratadas durante 14 días en extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Los valores corresponden a la media (n=4)  $\pm$  un desvío estándar.

**Table 3.** Germination vigor (%) of *A. sativa*, *L. perenne* and *R. sativus* seeds treated during 14 days in aqueous extract of *B. ulicina* of plants. Values are mean (n=4)  $\pm$  one standard deviation.

Tratamiento	Concentración	Vigor de la Germinación (%)*					
		<i>A. sativa</i>		<i>L. perenne</i>		<i>R. sativus</i>	
Testigo		77,6 $\pm$ 10,10	A	82,4 $\pm$ 6,02	A	89,0 $\pm$ 3,83	AB
Planta entera		62,2 $\pm$ 19,39	B	64,0 $\pm$ 11,39	AB	75,4 $\pm$ 10,04	BC
Tallo	Baja (5%)	32,8 $\pm$ 6,30	CD	47,6 $\pm$ 21,05	BC	92,4 $\pm$ 7,32	A
Hoja		33,0 $\pm$ 14,18	C	45,6 $\pm$ 16,72	BC	81,4 $\pm$ 5,75	ABC
Raíz		54,6 $\pm$ 12,77	B	60,2 $\pm$ 5,48	B	66,4 $\pm$ 15,44	C
Planta entera		16,8 $\pm$ 4,57	E	28,8 $\pm$ 11,39	CD	30,0 $\pm$ 13,65	D
Tallo	Alta (15%)	17,8 $\pm$ 3,54	DE	33,2 $\pm$ 15,87	C	68,4 $\pm$ 18,25	C
Hoja		16,6 $\pm$ 6,00	E	12,8 $\pm$ 9,07	DE	20,2 $\pm$ 15,70	DE
Raíz		6,2 $\pm$ 4,20	E	6,8 $\pm$ 5,25	E	4,0 $\pm$ 3,39	E

\* Medias seguidas por la misma letra, dentro de una misma columna, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (c), pág. 67.

\* Means followed by the same letter within a column, have no statistical difference test according to Fisher DMS ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (c), page 67.

### *Inhibición de la germinación (IG)*

La inhibición de la germinación causada por las distintas soluciones ensayadas fue similar para las tres especies.

Las soluciones que generaron mayor efecto fitotóxico fueron las de hoja y raíz con alta concentración. Esta última logró una IG mayor a 0,9 en las tres especies, triplicando los valores de la misma solución con baja concentración ( $p < 0,05$ ).

En *A. sativa* los resultados de estos dos extractos no difirieron de las demás soluciones con alta concentración.

La solución de planta entera con baja concentración generó la menor IG en las tres especies, con un promedio de 20% (tabla 4, pág. 71).



**Tabla 4.** Inhibición de la germinación (%) de semillas de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus* tratadas durante 14 días en extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Los valores corresponden a la media (n=4)  $\pm$  un desvío estándar.

**Table 4.** Inhibition of germination (%) of *A. sativa*, *L. perenne* and *R. sativus* seeds treated during 14 days in aqueous extract of *B. ulicina* plants. Values are mean (n=4)  $\pm$  one standard deviation.

Tratamiento	Concentración	Inhibición de la germinación (%)*								
		<i>A. sativa</i>			<i>L. perenne</i>			<i>R. sativus</i>		
Testigo**		78 $\pm$	9,52	PG	96 $\pm$	5,66	PG	89 $\pm$	3,83	PG
		1,00 $\pm$	0,00	CVG	0,88 $\pm$	0,05	CVG	1,00 $\pm$	0,00	CVG
Planta entera	Baja (5%)	22 $\pm$	0,23	D	23 $\pm$	0,14	D	15 $\pm$	0,11	CD
Tallo		58 $\pm$	0,08	BC	42 $\pm$	0,26	CD	2 $\pm$	0,03	D
Hoja		56 $\pm$	0,18	C	45 $\pm$	0,20	CD	9 $\pm$	0,06	CD
Raíz		30 $\pm$	0,17	D	27 $\pm$	0,07	D	26 $\pm$	0,18	C
Planta entera	Alta (15%)	78 $\pm$	0,06	A	65 $\pm$	0,21	BC	66 $\pm$	0,16	B
Tallo		77 $\pm$	0,04	AB	60 $\pm$	0,19	BC	23 $\pm$	0,21	C
Hoja		79 $\pm$	0,08	A	85 $\pm$	0,11	AB	78 $\pm$	0,18	AB
Raíz		92 $\pm$	0,05	A	92 $\pm$	0,07	A	96 $\pm$	0,04	A

\* Medias seguidas por la misma letra, dentro de una misma columna, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (d), pág. 67.

\*\* Resultados de Porcentaje de Germinación (PG) y Coeficiente de Velocidad de Germinación (CVG) correspondientes a los testigos de cada especie.

\* Means followed by the same letter within a column, have no statistical difference test according to Fisher DMS ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (d), page 67.

\*\* Results of Percentage of Germination and Germination Rate Coefficient for controls of each species.

### Efecto fitotóxico sobre el crecimiento inicial

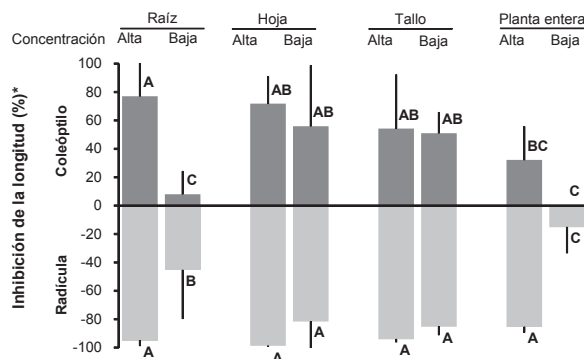
#### *Inhibición de la longitud de radícula (ILR) y coleóptilo / hipocótilo (ILC/H)*

Los extractos de *B. ulicina* afectaron de forma particular cada una de las especies evaluadas.

En *A. sativa* se registraron efectos alelopáticos muy importantes sobre la longitud de la radícula. Los mayores efectos fueron generados por los extractos con alta concentración y por las soluciones de tallo y hoja con baja concentración. Los mismos causaron una reducción promedio del 90% de la longitud de la radícula.

Respecto de la incidencia sobre la longitud de coleóptilo, las soluciones de raíz, hoja y tallo con alta concentración y hoja y tallo con baja concentración causaron las mayores inhibiciones, alcanzando valores entre 51 y 77% (figura 1, pág. 72).

Sobre *L. perenne*, el extracto de hoja con alta concentración alcanzó valores más altos de inhibición de la longitud de coleóptilo (87,3%) y de radícula (96,4%), aunque sin diferenciarse estadísticamente del resto de las soluciones con alta concentración. Singularmente, el extracto de planta entera con baja concentración no generó ningún tipo de inhibición (figura 2, pág. 72).

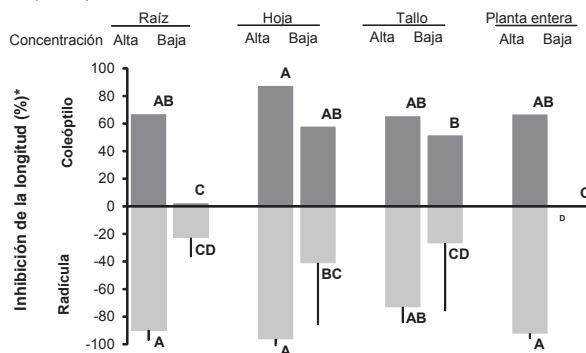


\* Barras con la misma letra, dentro de una misma parte de la plántula, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (e), pág. 67.

\* Bars with the same letter, within the same part of the seedling, have no statistical difference according to Fisher DMS test ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (e), page 67.

**Figura 1.** Efecto inhibitorio sobre la longitud de coleóptilo y de radícula de plántulas de *A. sativa* tratadas durante 14 días con extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Las barras indican la media ( $n=4$ ),  $\pm$  un desvío estándar.

**Figure 1.** Inhibition of coleoptile and radicle length of *A. sativa* seedlings treated during 14 days with aqueous extract of *B. ulicina* plants. The bars indicate the mean ( $n=4$ ),  $\pm$  one standard deviation.



\* Barras con la misma letra, dentro de una misma parte de la plántula, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (e), pág. 67.

\* Bars with the same letter, within the same part of the seedling, have no statistical difference according to Fisher DMS test ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (e), page 67.

**Figura 2.** Efecto inhibitorio sobre la longitud de coleóptilo y de radícula de plántulas de *L. perenne* tratadas durante 14 días con extractos acuosos de la planta de *B. ulicina*. Las barras indican la media ( $n=4$ ),  $\pm$  un desvío estándar.

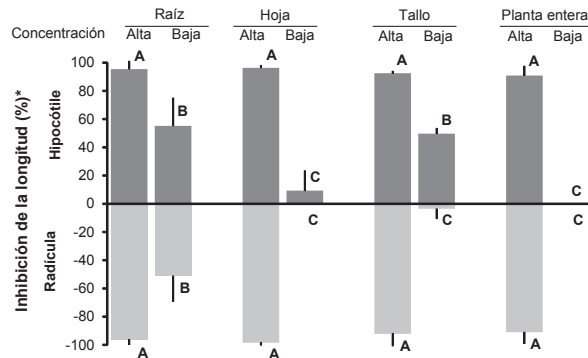
**Figure 2.** Inhibition of coleoptile and radicle length of *L. perenne* seedlings treated during 14 days with aqueous extract of *B. ulicina* plants. The bars indicate the mean ( $n=4$ ),  $\pm$  one standard deviation.

Utilizando extractos acuosos de raíz y parte aérea de *Cirsium arvense* (Asteraceae) con una concentración similar a la mayor de las utilizadas en el presente estudio, Bendall (3) registró efectos alelopáticos parecidos sobre la longitud del coleóptilo y radícula de *L. perenne*.

La inhibición de la longitud de radícula e hipocótilo en *R. sativus* fue apreciablemente dependiente de la concentración de las soluciones de *B. ulicina*.

Los extractos con alta concentración utilizados redujeron la longitud tanto de la radícula como del hipocótilo con valores superiores al 90% en la totalidad de los casos.

Los heterogéneos resultados obtenidos por las soluciones con baja concentración fueron notablemente inferiores a los anteriores. Similarmenete a lo sucedido en *L. perenne*, el extracto de planta entera con baja concentración no causó ningún tipo de efecto alelopático. Por su parte, la solución de hoja con baja concentración (5%) tampoco logró inhibición alguna sobre la longitud de la radícula o el hipocótilo (figura 3).



\* Barras con la misma letra, dentro de una misma parte de la plántula, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (e), pág. 67.

\* Bars with the same letter, within the same part of the seedling, have no statistical difference according to Fisher DMS test ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (e), page 67.

**Figura 3.** Efecto inhibitorio sobre la longitud de hipocótilo y de radícula de plántulas de *R. sativus* tratadas durante 14 días con extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Las barras indican la media ( $n=4$ ),  $\pm$  un desvío estándar.

**Figure 3.** Inhibition of hypocotyl and radicle length of *R. sativus* seedlings treated during 14 days with aqueous extract of *B. ulicina* plants. The bars indicate the mean ( $n=4$ ),  $\pm$  one standard deviation.

Antagónicamente, Maharjan *et al.* (17) utilizaron soluciones de hoja *P. hystrophorus* (Asteraceae) con menor concentración (2%) sobre *R. sativus* y registraron inhibiciones de la longitud de hipocótilo y radícula respecto del control de 80 y 78% respectivamente.

### Efecto alelopático combinado sobre la germinación y el crecimiento inicial Índice de vigor de radícula (IVR) e Índice de vigor de coleóptilo / hipocótilo (IVC/H)

Dado que el índice de vigor involucra tanto el porcentaje de germinación como la longitud de una de las partes constitutivas de las plántulas, de las variables utilizadas es la más completa para evaluar el efecto inhibitorio de los extractos ensayados.

Las diferentes soluciones utilizadas afectaron los valores de IVR y de IVC/H de manera muy similar en las tres especies, con marcadas diferencias entre las distintas concentraciones de los extractos. Las soluciones con alta concentración disminuyeron ambos índices en todos los casos, aunque sin hallarse diferencias entre sí para ninguna de las especies evaluadas. En *A. sativa*, las soluciones de hoja y tallo con baja concentración causaron similar efecto, sin diferenciarse estadísticamente ( $p < 0,05$ ) de los extractos con alta concentración (tabla 5).

**Tabla 5.** Índices de vigor de radícula (1) y de coleóptilo / hipocótilo (2) de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus* tratadas durante 14 días en extractos acuosos de plantas de *B. ulicina*. Los valores corresponden a la media ( $n = 4$ )  $\pm$  un desvío estándar.

**Table 5.** Radicle vigor index (1) and coleoptile / hypocotyl vigor index (2) of *A. sativa*, *L. perenne* and *R. sativus* treated during 14 days in aqueous extract of *B. ulicina* plants. Values are mean ( $n = 4$ )  $\pm$  one standard deviation.

Tratamiento	Concent.	<i>A. sativa</i>		<i>L. perenne</i>		<i>R. sativus</i>	
1) Índice de vigor de radícula*							
Testigo		926,8 ± 242,57	A	212,7 ± 18,50	AB	441,7 ± 135,49	B
Planta entera	Baja (5%)	778,4 ± 339,49	AB	281,7 ± 47,81	A	493,2 ± 138,93	AB
Tallo		67,6 ± 34,37	C	198,8 ± 69,59	BC	505,7 ± 112,28	AB
Hoja		99,7 ± 137,96	C	126,9 ± 119,70	C	623,6 ± 104,20	A
Raíz		497,3 ± 418,38	B	145,4 ± 32,75	BC	173,9 ± 104,20	C
Planta entera	Alta (15%)	59,5 ± 26,20	C	8,5 ± 8,16	D	19,9 ± 26,91	D
Tallo		17,6 ± 7,92	C	45,9 ± 22,37	D	28,6 ± 28,33	D
Hoja		3,3 ± 2,13	C	5,2 ± 6,42	D	2,6 ± 3,54	D
Raíz		3,6 ± 1,39	C	4,3 ± 3,80	D	2,1 ± 4,20	D
2) Índice de vigor de coleóptilo / hipocótilo*							
Testigo		400,8 ± 81,77	A	329,8 ± 11,70	A	561,7 ± 29,89	A
Planta entera	Baja (5%)	493,5 ± 196,72	A	366,3 ± 60,17	A	582,4 ± 128,50	A
Tallo		98,6 ± 49,56	B	149,1 ± 104,55	B	299,3 ± 38,27	B
Hoja		101,1 ± 119,41	B	126,4 ± 111,35	BC	552,3 ± 108,47	A
Raíz		414,6 ± 205,66	A	324,6 ± 54,76	A	199,4 ± 128,62	B
Planta entera	Alta (15%)	120,6 ± 52,50	B	76,5 ± 86,42	BCD	25,0 ± 31,61	C
Tallo		71,2 ± 75,14	B	90,4 ± 46,20	BCD	34,1 ± 10,40	C
Hoja		32,0 ± 21,06	B	30,1 ± 36,08	CD	6,7 ± 6,46	C
Raíz		8,8 ± 16,04	B	20,0 ± 15,52	D	3,0 ± 4,48	C

\* Medias seguidas por la misma letra, dentro de una misma columna, no presentan diferencia estadística de acuerdo con el test de DMS de Fisher ( $p < 0,05$ ). Datos obtenidos mediante fórmula (f1) y (f2), pág. 67, respectivamente.

\* Means followed by the same letter within a column, have no statistical difference test according to Fisher DMS ( $p < 0.05$ ). Data obtained by formula (f1) and (f2), page 67, respectively.

En *R. sativus* se registró un resultado muy peculiar, dado que el valor de IVR alcanzado por el extracto de hoja con baja concentración fue mayor que el correspondiente al testigo. Dicha diferencia se debió completamente a la longitud de la radícula, dado que ambos tratamientos no difirieron en el porcentaje de germinación. Las plántulas correspondientes al tratamiento de planta entera con baja concentración también tuvieron mayor longitud de radícula que las pertenecientes al testigo, solo que dicha diferencia no se manifestó en el IVR. En las determinaciones de longitud del hipocótilo se registraron resultados similares, ya que la solución de planta entera con baja concentración obtuvo mayores valores que el testigo, mientras que la de hoja con baja concentración fue la única que no difirió del control (tabla 5, pág. 74). Estos resultados sugieren la posibilidad que en la hoja de *B. ulicina* exista algún compuesto que, en bajas concentraciones y mezclado con las otras partes constitutivas de la planta, contrariamente a lo esperado, estimule el crecimiento de las plántulas de *R. sativus*. Existen antecedentes de que una misma solución inhibe o estimula el crecimiento de una determinada especie dependiendo de su concentración (15, 19).

## CONCLUSIONES

Las soluciones tanto de las partes constitutivas como de la planta entera de *B. ulicina* demostraron ejercer un evidente efecto alelopático sobre la germinación y el crecimiento inicial de *A. sativa*, *L. perenne* y *R. sativus*. No se observaron mayores diferencias entre los resultados obtenidos para las distintas especies evaluadas. La magnitud de la inhibición causada por *B. ulicina* estuvo estrechamente relacionada a la concentración de los tejidos con los que fueron realizados los extractos. En general, las soluciones con alta concentración ejercieron un importante efecto fitotóxico, evidenciado en los distintos parámetros evaluados.

Las soluciones de hoja y raíz con alta concentración se distinguieron prácticamente en todos los casos por su mayor efecto alelopático. Esto puede observarse claramente sobre el vigor de la germinación y la inhibición de la germinación, fundamentalmente de *L. perenne* y *R. sativus*. En *A. sativa*, las soluciones de hoja y tallo con baja concentración tuvieron un desempeño similar a las del resto de los extractos con alta concentración, principalmente en las determinaciones de longitud de coleóptilo y de radícula. En cuanto a las evaluaciones del IVR e IVC/H, las soluciones con alta concentración causaron el mayor efecto fitotóxico, sin encontrarse diferencias entre ellas para ninguna de las especies.

Si bien resulta evidente la presencia de al menos un metabolito secundario en *B. ulicina* responsable de causar efectos inhibitorios sobre otras especies, en base a los resultados obtenidos no es posible definir su distribución precisa dentro de la planta. Debido al mayor efecto alelopático logrado por los extractos de hoja y raíz, y a la menor actividad alcanzada por las soluciones de tallo, es factible que estén presentes en los extremos distales de las plantas. La liberación al ambiente por parte de *B. ulicina* de dichos compuestos fitotóxicos, probablemente sea una importante estrategia ecológica que facilita el proceso de invasión y perpetuación en los pastizales naturales.

Futuras investigaciones basadas en la evaluación de soluciones de *B. ulicina* realizadas en distintos estadios fenológicos, e incluso con plantas provenientes de distintos ambientes, aportarán la información necesaria para comprender en detalle el complejo proceso en el que dicha especie afecta el crecimiento de plantas vecinas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abad Martínez, M. J.; Latourrette Bessa, A.; Bermejo Benito, P. 2005. Biologically active substances from the genus *Baccharis* L. (Compositae). *Studies in Natural Products Chemistry* 30: 703-759.
2. Abdul-Baki, A. A.; Anderson, J. D. 1973. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigour in soybean seed. *Crop Science* 13: 222-226.
3. Bendall, G. M. 1975. The allelopathic activity of Californian thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) in Tasmania. *Weed Research* 15(2): 77-81.
4. Cazón, A.; De Viana, M.; Gianello, J. C. 2000. Identificación de un compuesto alelopático de *Baccharis boliviensis* (Asteraceae) y su efecto en la germinación de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae). *Revista de biología tropical* 48(1): 47-51.
5. Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M. G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C. W. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
6. Giorgis, M. A.; Cingolani, A. M.; Chiarini, F.; Chiapella, J.; Barboza, G.; Ariza Espinar, L.; Morero, R.; Gurvich, D. E.; Tecco, P. A.; Subils, R.; Cabido, M. 2011. Composición florística del Bosque Chaqueño Serrano de la provincia de Córdoba, Argentina. *Kurtziana* 36: 9-43.
7. Giuliano, D. A. 2001. Clasificación infragenérica de las especies argentinas de *Baccharis* (Asteraceae; Astereae). *Darwiniana* 39: 131-154.
8. Gonzaga Verdi, L.; Costa Brighente, I. M.; Pizzolatti, M. G. 2005. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química Nova* 28: 85-94.
9. González-Zertuche, L.; Orozco-Segovia, A. 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 58: 15-30.
10. Hierro, J. L.; Callaway, R. M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant and soil* 256: 29-39.
11. Hudson, E. E.; Stiling, P. 1997. Exploitative competition strongly affects the herbivorous insect community on *Baccharis halimifolia*. *OIKOS* 79: 521-528.
12. Jarvis, B. B.; Mokhtari-Rejali, N.; Schenkel, E. P.; Barros, C. S.; Matzenbacher, N. I. 1991. Trichothecene mycotoxins from brazilian *Baccharis* species. *Phytochemistry* 30: 789-797.
13. Khan, M. A.; Kalsoom, U.; Khan, I. M.; Khan, R.; Khan, S. A. 2011. Screening the allelopathic potential of various weeds. *Pakistani Journal of Weed Science Research* 17: 73-81.
14. Lamberto, S.; Valle, A.; Aramayo, E.; Andrada, A. 1997. Manual ilustrado de las plantas silvestres de la región de Bahía Blanca. Dpto. de Agronomía, UNS. Ed. Diagrama, Bahía Blanca. 548 p.
15. Lorenzi, H. 2000. Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. vol 1. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 339 pp.
16. Macías, F. A.; Castellano, D.; Molinillo, J. M. G. 2000. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 2512-2521.
17. Maharjan, S.; Shrestha, B. B.; Jha, P. K. 2007. Allelopathic effects of aqueous extract of leaves of *Parthenium hysterophorus* L. on seed germination and seedling growth of some cultivated and wild herbaceous species. *Scientific World* 5: 33-39.
18. Mairesse, L. A. S.; Costa, E. C.; Faria, J. R.; Fiorins, R. A. 2007. Bioatividade de extratos vegetais sobre alface (*Lactuca sativa*). *Revista da FZVA* 14: 1-12.
19. May, D.; Ribas de Oliveira, C. M.; Rocha, L. D.; Maranhão, L. T. 2011. Efeito de extratos de casca de café (*Coffea arabica* L.) na germinação e crescimento de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Brazilian Journal of Biosciences* 9: 180-186.
20. Narwal, S. S.; Haouala, R. 2011. Allelopathic strategies for ecological weed management. *Herbologia* 12: 29-56.
21. Palacios, S. M.; Del Corral, S.; Carpinella, M. C.; Ruiz, G. 2010. Screening for natural inhibitors of germination and seedling growth in native plants from Central Argentina. *Industrial Crops and Products* 32: 674-677.
22. Rashid, H.; Asaeda, T.; Uddin, N. 2010. The allelopathic potential of kudzu (*Pueraria montana*). *Weed Science* 58: 47-55.

23. Rearte, D. 2011. Situación actual y prospectiva de la ganadería argentina, un enfoque regional. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal 19: 46-49.
24. Rémillard, S. 2011. Pampa argentina: solutions face à la désertification d'une écorégion. Tesis para optar a la Maestría en Ecología Internacional, Faculté des Sciences Université de Sherbrooke. 84 p.
25. Rice, E. L. 1984. Allelopathy. 2<sup>nd</sup> Edition. Orlando, Academic Press, 422 p.
26. Ridenour, W. M.; Callaway, R. M. 2001. The relative importance of allelopathy in interference: the effects of invasive weed of native bunchgrass. Oecologia 126: 444- 450.
27. Rizzo, I.; Varsavsky, E.; Haidukowski, M.; Frade, H. 1997. Macrocyclic trichothecenes in *Baccharis coridifolia* plants and endophytes and *Baccharis artemisioides* plants. Toxicon 35: 753-757.
28. Rodrigues, B. N.; Passini, T.; Ferreira, A. G. 1999. Research on allelopathy in Brazil. In: Narwal, S.S. (Eds.) Allelopathy update. New Hampshire, Science Publishers. p. 307-323.
29. SENASA. 2011. Indicadores de ganadería bovina. Disponible en: [www.senasa.gov.ar](http://www.senasa.gov.ar) acceso: Fecha de consulta: 1 febrero 2012.
30. Tanveer, A.; Tahir, M.; Nadeem, M. A.; Younis, M.; Aziz, A.; Yaseen, M. 2008. Allelopathic effects of *Xanthium strumarium* L. on seed germination and seedling growth of crops. Allelopathy Journal 21: 317-328.
31. Wakjira, M.; Berecha, G.; Bulti, B. 2011. Phytotoxic effects of multi-purpose tree species on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. International Journal of Agricultural Research 6: 149-162.
32. Williamson, G. B.; Richardson, D. 1988. Bioassays for allelopathy: measuring treatment responses with independent controls. Journal of Chemical Ecology 14: 181-187.
33. Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. 2008. Allelopathy in sustainable agriculture and forestry. Springer Verlag, Germany. 412 p.