

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

INTERFERENCIA ALELOPÁTICA DE CULTIVARES DE CEBADA SOBRE
LOLIUM MULTIFLORUM L.

por

Pilar CAPURRO BARCIA
Elisa María SOTELO RICO

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO
URUGUAY
2010

Tesis aprobada por:

Director: -----

Ing. Agr. Grisel Fernández

Ing. Agr. Ariel Castro

Q.F. Verónica Cesio

Fecha: -----

Autor: -----

Pilar Capurro Barcia

Elisa María Sotelo Rico

AGRADECIMIENTOS

A Grisel, por su confianza y disponibilidad sin descanso, merecedora del mayor reconocimiento.

A Q.F. Verónica Cesio e Ing. Agr. Ariel Castro por su valiosa contribución para esta tesis.

A los Profs. Ings. Agrs. Carlos Perez y Esteban Hoffman por su colaboración.

Y por supuesto, a nuestras familias y compañeros de la generación EEMAC 2008.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	V
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	2
2.1. <u>ALELOPATÍA</u>	2
2.1.1. <u>Definición</u>	2
2.1.2. <u>Generalidades</u>	2
2.1.3. <u>Usos de la alelopatía</u>	10
2.2. <u>EVIDENCIA DE ALELOPATÍA EN PLANTAS AGRÍCOLAS</u>	12
2.2.1. <u>Métodos para la evaluación de alelopatías en cultivos</u> ...	17
2.2.1.1. "Equal compartment agar method(ECAM)"	17
2.2.1.2. Método propuesto por Bertholdsson.....	18
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	19
3.1. <u>INSTALACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS</u>	19
3.1.1. <u>Ubicación</u>	19
3.2. <u>TRATAMIENTOS</u>	19
3.2.1. <u>Información relativa a los cultivares utilizados</u>	22
3.3. <u>DISEÑO EXPERIMENTAL</u>	23
3.4. <u>METODOLOGÍA E INSTALACIÓN</u>	24
3.5. <u>DETERMINACIONES</u>	27
3.6. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS</u>	28
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	29
4.1. <u>EXPERIMENTO 1</u>	29
4.2. <u>EXPERIMENTO 2</u>	30
4.3. <u>EXPERIMENTO 3</u>	32
4.4. <u>ANÁLISIS CONJUNTO DE LOS TRES EXPERIMENTOS</u> ...	34
5. <u>CONCLUSIONES</u>	38
6. <u>RESUMEN</u>	39
7. <u>SUMMARY</u>	40
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	41

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Descripción de los tratamientos.....	20
2. Características de crecimiento de los cultivares utilizados.....	22
3. Longitud de raíz de la especie receptora (cm) y valor del índice AAP1 para los tratamientos ensayados en el Experimento 1.....	29
4. Longitud de raíz (cm) y valor del índice AAP1 para los tratamientos ensayados en el Experimento 2.....	30
5. Valor de los índices AAP2 y AAP3 para los tratamientos ensayados en el Experimento 2.....	31
6. Índice AAP1 para los tratamientos ensayados en el Experimento 3....	32
Figura No.	
1. Relación parental del cultivar CLE 202 con Magnific 104.....	21
2. Dendrograma entre variedades de cebada, realizado con los índices relativos a AAP1, AAP2 Y AAP3 estandarizados, obtenidos en los 3 experimentos el primero y en los experimentos 2 y 3 los otros.....	34
Foto No.	
1. Disposición de los recipientes en bloques dentro de la cámara de crecimiento controlado (temperatura 20° C- 8/16 hs luz oscuridad).....	23
2. Tratamiento aséptico de las semillas.....	24
3. Modificación del tratamiento aséptico propuesto por Wu (1999) para semillas dadoras.....	25
4. Pregerminado de las semillas de raigrás y cebada en estufa a 25°.....	25
5. Preparación del medio receptor agua-agar.....	26

6. Semillas pre-germinadas de raigrás y cebada sembradas en superficie de medio agua-agar.....26
7. Determinación del largo de radícula del raigrás en hoja milimetrada...27

1. INTRODUCCIÓN

El enmalezamiento de especies gramíneas resulta un aspecto crítico de la problemática de malezas en cultivos de invierno en el país. En primer lugar, las malezas gramíneas, como raigrás (*Lolium multiflorum*) y balango (*Avena fatua*) constituyen dos especies de alta frecuencia en chacras destinadas a cultivos de invierno. Relevamientos recientes señalan a raigrás como la especie de maleza más frecuente en las áreas de cultivo del litoral agrícola.

Por otra parte, el control de estas especies es complejo. Si bien existen numerosas opciones herbicidas para su control, las mismas presentan varias limitantes. Algunos productos son de costo elevado, otros con ventanas de aplicación muy restringidas resultando con efectividades rentables sólo cuando aplicados muy tempranamente en relación al desarrollo de la maleza gramínea y en general presentan importante dependencia climática en su actividad.

A estas limitantes se suman además el potencial de daño en cultivo al presentar selectividades marginales aún siendo utilizados con protectores o aplicados en condiciones adversas y presentar riesgo de creación de resistencias. Los gramínicos utilizados en el país pertenecen en su mayoría al grupo I y en menor medida al grupo II, ambos grupos de alto riesgo de creación de resistencia.

La cebada es citada por abundante literatura como planta con un futuro prometedor en lo que respecta al control de malezas. Su alta actividad alelopática potencial, además de otras características de crecimiento inicial, generan grandes expectativas sobre la posibilidad de combatir los problemas de enmalezamiento de forma alternativa o complementaria al uso de herbicidas sintéticos creados por el hombre.

Estas consideraciones dan relevancia a todo estudio dirigido a la búsqueda de alternativas al control químico (inclusive con el premio de la disminución de los impactos ambientales) como puede ser la explotación del potencial alelopático en cultivares de especies sembradas.

En este marco se realizó un experimento con el objetivo de estudiar el potencial alelopático de cultivares de cebada (*Hordeum vulgare*) más promovidos, o con uso promisorio en el país, mediante su efecto sobre el crecimiento de raigrás anual (*Lolium multiflorum*).

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. ALELOPATÍA

2.1.1. Definición

La palabra alelopatía es señalada en 1937 por Molisch, citado por Haig (2008) y proviene de la unión de dos palabras griegas: *allelon* que significa “mutual” y *pathos* que significa “daño”, y fue usada para describir los efectos que una planta puede tener sobre otra a través de la liberación de productos químicos.

Según Putnam (1988) existen al menos dos mecanismos que son responsables de la interferencia entre plantas: la alelopatía y la competencia. Ésta última, refiere a la reducción de algún factor ambiental limitante por una planta que comparte el mismo habitat con otra y lo requiere, como puede ser el agua, la luz, los minerales y otros.

El término alelopatía, es descrito en un sentido amplio por Rice (1974), y refiere a cualquier efecto de una planta, o microorganismo, que daña o beneficia, directa o indirectamente, a otra/o a través de la producción de compuestos químicos liberados al ambiente. Mallik (2008), profundizando el concepto anterior, define alelopatía como el fenómeno ecológico de interferencia planta-planta a través de la liberación de químicos orgánicos o aleloquímicos al ambiente, los cuales interfieren con la sobrevivencia y crecimiento de plantas vecinas. Wu et al. (1999) determinan que la mayoría de los casos identificados como alelopatía se asocian a efectos deletéreos causados por una planta sobre otra.

Ambos mecanismos de interferencia interactúan en el medio ambiente en una forma sinérgica, y muchas veces sus efectos son confundidos e inseparables para su identificación. Blum et al., citados por Weidenhammer (2006), plantean que muchas veces la competencia por determinados recursos puede llevar a la ocurrencia de interacciones alelopáticas.

2.1.2. Generalidades

Mecanismo de acción de la alelopatía

Los aleloquímicos, mediadores químicos en los que se basa la alelopatía, son metabolitos secundarios no nutricionales liberados al ambiente

por organismos vivientes, por ejemplo plantas, que poseen efectos estimulantes o inhibitorios sobre el crecimiento, salud, o comportamiento de organismos vecinos (plantas, insectos, microorganismos) (Haig, 2008). Dichos compuestos derivan de las diferentes vías metabólicas de las plantas sin tener un rol importante en las funciones esenciales de las mismas. Las principales vías que dan origen a metabolitos secundarios con potencial alelopático son la del ácido shiquímico y la del acetato (Einhellig y Leather, 1988). En las plantas, metabolitos secundarios como los alcaloides, las cumarinas, los glucosinolatos y los glucósidos cianogenéticos, son derivados de los aminoácidos, que son metabolitos primarios. Otros metabolitos secundarios, como los poliquétidos y los terpenos tiene como precursor común a la acetilcoenzima A (Cesio, 2004).

Liberación de aleloquímicos

Según Rice (1974), las plantas liberan los inhibidores por distintas vías. Una de ellas es la volatilización. Ya en 1932, Elmer demostró que las sustancias volátiles de las manzanas inhiben el crecimiento de los brotes de papa.

Otra forma por la cual las plantas disponibilizan aleloquímicos es como exudados por la raíz. Se ha demostrado que varias especies producen exudados tóxicos de la raíz: *Sorghum halepense*, *Araucaria cunninghamii*, *Pinus eliottii*, *Helianthus annuus*. También los aleloquímicos pueden provenir de la descomposición de material vegetal. Hay varias especies de plantas en las que se ha demostrado que los inhibidores del crecimiento son liberados de sus residuos en descomposición. Estos incluyen el trigo y la avena, la cebada y el centeno, el maíz y el sorgo.

Los metabolitos secundarios se consideran compuestos potencialmente alelopáticos. Esto se debe al hecho de que al ser liberados por las plantas pueden o no poseer actividad biológica. Si son inactivos, en el complejo suelo-rizósfera pueden sufrir alteraciones metabólicas o ambientales en su estructura, que derivan en la expresión de su actividad. Ejemplo de esto es el caso más famoso en alelopatía, el nogal (*Juglans nigra*). Las hojas, raíces y frutos de este árbol producen hidroquinonas, químicos que al ser oxidados en el ambiente dan origen a la juglona, compuesto responsable de los efectos tóxicos en otras plantas (Kocacaliskan y Terzi, citados por Lotina-Hennsen et al., 2006). Por otro lado, otros compuestos bioactivos liberados por la planta pueden volverse inactivos debido a transformaciones químicas en el aire, agua o suelo.

En las plantas los aleloquímicos varían en su ubicación, desde órganos como semillas, flores, polen, hojas, tallos y/o raíces.

Se ha encontrado que las raíces contienen menos inhibidores y, por lo general, menos potentes que las hojas, pero esto a veces se invierte. Muchos investigadores han ensayado con raíces separadamente, encontrando que algunas raíces si contienen inhibidores (Rice, 1974).

Los factores ambientales juegan un rol en determinar los niveles de metabolitos secundarios en plantas en crecimiento y pueden influenciar la distribución en los diferentes órganos de la planta (Inderjit, citado por Haig, 2008). Como ejemplo, se puede citar ataque de plagas, fertilidad del suelo, o heridas que provocan en la planta reacciones defensivas. A su vez, también los factores ambientales actúan en la sensibilidad de las plantas a los compuestos que liberan sus vecinas.

Esta misma idea es reafirmada por de la Cruz (1998), quien menciona el hecho de que las sustancias del metabolismo secundario son muy sensibles a las condiciones climáticas durante el crecimiento de la planta y a su edad fisiológica.

Las plantas responden a estreses del ambiente a través de variadas reacciones bioquímicas. El aumento de compuestos como fenoles e isoterpenoides bajo estreses del ambiente ha sido bien documentado. Por ejemplo aumento de UV-B inducen a la acumulación de fenilpropanoides y flavonoides en diferentes especies de plantas como arvejas, papa, tomate, maíz, lino, cebada y arroz (Haig, 2008).

Otro factor que afecta la interacción alelopática es la especie de la que se trate. La resistencia o tolerancia a los metabolitos secundarios es más o menos específica existiendo especies más sensibles que otras como por ejemplo *Lactuca sativa* y *Licopersycum esculentum*, razón por la que son muy utilizadas para evaluar potencial alelopático en ensayos (Ferreira y Aquila, 2000).

Putnam (1988) señala que la planta puede ser inhibida o estimulada dependiendo de la concentración de los compuestos que alcanzan a ella y su sensibilidad a los mismos. La manipulación de densidades de semillas puede resultar en cambios en los efectos de la concentración de aleloquímicos. Los efectos fitotóxicos en ensayos de crecimiento en laboratorio e invernáculo dependen de la densidad de la planta receptora. La fitotoxicidad de toxinas conocidas disminuye cuando la densidad de la especie receptora aumenta. Esto se explica ya que al aumentar la densidad de plantas receptoras, la disponibilidad de toxinas por cada planta disminuye (efecto dilución).

La densidad de la especie dadora es otro aspecto a considerar. Wu et al. (2001) encontraron que el efecto alelopático de semillas de trigo en germinación sobre la germinación de semillas de raigrás anual, era dependiente de la densidad de semillas de la primera especie. La inhibición del crecimiento de raigrás (evaluando longitud de la raíz) era mayor a medida que la densidad de semillas de trigo aumentaba. Cuando las semillas de trigo se incrementan, la concentración de aleloquímicos exudados aumenta a la par, resultando en una mayor inhibición del crecimiento de la raíz de raigrás. Por lo tanto es muy importante tomar en cuenta la densidad tanto de la especie dadora como receptora a la hora de diseñar ensayos.

La edad de la planta tiene efectos adversos en la variable cantidad de compuestos con potencial alelopático, especialmente después de haber alcanzado el último estadio vegetativo. Un caso es el de de brócoli (*Brassica oleracea*) las plantas mas adultas de esa especie pueden contener tan poco como un $\mu\text{mol}/\text{gramo}$ de peso fresco de compuestos llamados GSL's, mientras que brotes jóvenes pueden contener mas de 100 $\mu\text{mol}/\text{gramo}$ de estos compuestos en su peso fresco (Haig, 2008).

Otro ejemplo acerca de la influencia de la edad de la planta sobre el potencial alelopático es mencionado por Souza et al. (2003) que estudiaron el efecto alelopático de *calopo* en función de su edad y densidad de la semilla receptora. Los efectos revelaron que la intensidad del efecto alelopático de la parte aérea era creciente hasta la edad de cuatro semanas cuando alcanzó su valor máximo; mientras que los efectos promovidos por las raíces aumentaron con la edad hasta las 12 semanas de crecimiento, superando aquellos efectos promovidos por la parte aérea.

Por otro lado, extractos acuosos del tallo de *Medicago sativa* en estado reproductivo presentaron mayor poder inhibitorio, evaluado sobre el crecimiento de la misma planta, que extractos de órganos de la planta en estado vegetativo bajo condiciones de laboratorio (Hedge y Miller, Chung y Millar, citados por Chon et al., 2003).

Sitio de acción

En la alelopatía planta-planta los efectos inhibitorios mas comunes se evidencian sobre algunas funciones de la planta como la respiración, la fotosíntesis, el balance de agua y la función estomática, la conductancia del agua en el tallo, el flujo de elementos en el xilema, la permeabilidad de las membranas, la división y desarrollo celular, la síntesis de proteínas y la alteración de la actividad enzimática.

Como consecuencia, los aleloquímicos pueden determinar efectos sobre el crecimiento y deposición de materia seca. En este sentido, Sampietro (2003) señala varias especies con potencial alelopático y cuyos exudados radiculares producen un efecto inhibitorio en cuanto a acumulación de materia seca en la especie blanco.

Esta idea es también desarrollada por Blanco (2006) quien establece que el efecto alelopático tiene múltiples efectos que van desde inhibición o estimulación de los procesos de crecimiento de las plantas vecinas hasta la inhibición de germinación de semillas.

Acerca del efecto inhibitorio de los aleloquímicos sobre la acumulación de biomasa de especies receptoras, en un trabajo realizado por Acciaresi y Asenjo (2003) fue posible detectar efectos alelopáticos de rizomas de *Sorghum halepense* en estado de plántula sobre el crecimiento inicial y la biomasa aérea y radical de trigo (*Triticum aestivum*). Otro caso, es el citado por Sampietro (2003) donde efectos de *Bidens pilosa* determinaron reducciones o inhibiciones del área foliar, el crecimiento y la materia seca en maíz, sorgo y lechuga.

Ormeño et al. (2008), estudiando el efecto de residuos de centeno sobre el crecimiento de *Cyperus esculentus* y gramilla (*Cynodon dactylon*) encontraron que reducían significativamente la materia seca de *C.esculentus* en relación a los mejores controles químicos usados. Los autores aclaran que esta maleza además de ser sensible al sombreado, es altamente sensible al efecto inhibitorio que ejercen los ácidos hidroxámicos del centeno, concentrados en los residuos tanto aéreos como subterráneos.

Tipos de metabolitos secundarios

Los aleloquímicos son compuestos de estructura química muy variada poseyendo también diversos modos de acción (Einhelling y Leather, 1988). No muchos de estos modos de acción son completamente comprendidos, pero los que se conocen, se parecen al modo de acción de los herbicidas sintetizados artificialmente (Wu et al., 1999).

Las toxinas producidas naturalmente por las plantas han sido caracterizadas y se encuentran muchas clases de químicos mostrando variables efectos fisiológicos en especies susceptibles desde supresión de la germinación de semillas a inhibición del crecimiento en la germinación, y daño de los tejidos meristemáticos. Esto sugiere que las células blanco y los modos de acción de estas toxinas son diversos.

Putnam (1988) establece que la mayoría de los casos registrados como alelopatía parecen involucrar un complejo de sustancias químicas de diferentes grupos químicos en lugar de un solo fitotóxico. Ejemplo de esto es citado por Einhellig (2004) para compuestos fenólicos, dado que la mayoría de la contribución a la alelopatía por este grupo es probablemente dada por más de una sustancia.

Uno de estos grupos de aleloquímicos, es el de los glucosinolatos (GSL's), compuestos químicos que contienen azufre y ocurren naturalmente como metabolitos secundarios. Los más estudiados de estos GSL's son un grupo de diecinueve compuestos de los vegetales pertenecientes a las *Brassicaceae*. El primer aislamiento de GSL's se remonta al 1830 cuando los compuestos de sinalbin y sinigrin fueron obtenidos de mostaza blanca (*Sinapsis alba*) y mostaza negra (*Brassica nigra*) respectivamente (Haig, 2008).

Los GSL's se translocan en floema por la acción de un transportador específico resultando una amplia distribución interna en las plantas encontrándose la mayor proporción en tallos, hojas, raíces y semillas

Según este mismo autor, varios estudios realizados en lechuga (*Lactuca sativa*), en *Echinochloa sp.* y en trigo así como también en *Abutilon theoprasii* comprobaron los efectos alelopáticos en distintas especies de *Brassica*.

Otro gran grupo de compuestos aleloquímicos son los fenoles. El término compuestos fenólicos en alelopatía, se corresponde con un amplio conjunto de aleloquímicos como fenólicos aromáticos simples; ácidos cinámicos hidrogenados y sustituidos, cumarina, taninos y quizás algunos flavonoides. Se conocen cerca de 8000 compuestos fenólicos y todos ellos provienen de la ruta del ácido shiquímico (Caballero, 2004).

Ciertamente el grupo de los fenoles ha recibido gran atención involucrándolos con la actividad alelopática (Einhellig y Leather, 2004).

A pesar de esta cantidad de información hay propiedades de este grupo que no encajan en el concepto de alelopatía. Por ejemplo, este tipo de compuestos son los más ampliamente distribuidos en todas las sustancias de las plantas y los menos específicos en acción al igual que los ácidos cinámicos, que son considerados por estar universalmente en plantas superiores (Dalton, citado por Haig, 2008).

La evidencia acumulada pone a los compuestos fenólicos jugando un rol significativo en la alelopatía, y un gran número de revisiones en bioquímica y ecología han sido escritas (Inderjit, citado por Haig, 2008).

Los diferentes compuestos tienen toxicidad variable, modos similares de acción y atacan la función celular en más de un ciclo. A pesar de todo esto no se asocian al modo de acción típico de los herbicidas. Las concentraciones individuales en suelo son usualmente mucho menores que a las que aparecen como necesarias para tener acción significativa en ensayos químicos. La débil fitotoxicidad que exhiben parece ser dependiente de los efectos aditivos de cada uno individualmente por daño.

La abundancia de los fenoles en suelo como una parte natural de la materia orgánica bajo ciertas condiciones de suelo, parece ser capaz de cambiar el crecimiento de diferentes plantas vecinas pero ningún experimento ha sido publicado que de prueba a la actividad alelopática de los fenoles bajo condiciones de campo (Dalton, Huan et al., citados por Haig, 2008).

Información adicional sobre el modo de acción de los fenoles los relaciona con efectos en la membrana celular, relaciones hídricas, fitohormonas, efectos enzimáticos, fotosíntesis, respiración y flujo de carbono en plantas (Einhellig, 2004).

Como también señala Rice (1974), las cumarinas ocurren en todas partes de las plantas y se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Schreiner y Reed, citados por Rice (1974) reportaron que las cumarinas y la esculina son muy inhibitorias del crecimiento de plántulas de trigo.

Según Blanco (2006), los compuestos que han sido identificados en cebada como cumarinas inhiben el crecimiento de plantas inducido por giberelinas

Einhellig et al., citados por Chon et al. (2003), reportaron que un derivado de la cumarina, llamado scopoletina, inhibe la producción de materia seca, la expansión del área foliar y la fotosíntesis en tabaco (*Nicotiana tabacum L.*) y girasol (*Helianthus annuus L.*). Al igual otros fenólicos tales como el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico reducen potencial hídrico de la hoja y la conductancia estomática en sorgo para grano (*Sorghum bicolor (L.) moench*) y soja (*Glycine max L. Merr.*).

Otro grupo de interés son los terpenoides. Se conocen 75.000 compuestos de este tipo, todos ellos poseen un precursor de cinco carbonos

que es el isopreno (Caballero, 2004). Dentro de los géneros que los producen encontramos *Salvia spp*, *Amaranthus*, *Eucalyptus*, *Artemisia* y *Pinus* (Sampietro, 2003). Los grupos más comunes son fitoesteroides, resinas, y mezclas de aceites esenciales entre otros.

Las plantas superiores producen gran variedad de terpenoides pero solo un pequeño número de ellos ha sido relacionado con el fenómeno de la alelopatía. Los monoterpenoides son componentes de los aceites esenciales de las plantas y son los terpenoides predominantes que se han identificado como inhibidores de plantas superiores. Alcanfor y cíneol fueron encontrados como los de mayor inhibición del crecimiento de raíz en test con plántulas (Rice, 1974).

Por ejemplo, el monoterpenoide 1,8-Cineol suprime la actividad mitocondrial de la *Avena fatua* y reduce la fosforilación oxidativa. La revisión realizada por Fischer (1986) describe a los mono y sesquiterpenoides como reguladores de germinación y crecimientos de las plantas y cita catorce terpenoides asociados a la fitotoxicidad (Haig, 2008).

Se piensa que la actividad tóxica de los terpenoides se debe a la acción conjunta de 2 o más compuestos que ocurren en las mezclas de los aceites. Algunos sugieren una interacción sinérgica entre los componentes de aceites y mezclas. Sin embargo, Vokou et al., citados por Haig (2008), niega una gran significancia del rol de la sinergia en la fitotoxicidad de los monoterpenoides.

Los alcaloides son otro gran grupo de metabolitos secundarios que se nombraron así en 1819 por su reacción alcalina durante la extracción de partes de la planta usando ácidos acuosos.

Éstas sustancias son usualmente cíclicas o policíclicas y derivan de una vía de biosíntesis que comienza fundamentalmente con los aminoácidos fenilalanina, ornitina, lisina y a partir del triptofano.

La estructura química de los alcaloides es muy diversa y su clasificación es muy compleja. Pudiéndose clasificar a éstos en cuatro grupos, el de los alcaloides, los alcaloides purinas, los terpenos aminados y los alcaloides poliquétidos (Haig, 2008).

Evenari, citado por Rice (1974) subrayó con fuerza la importancia de estos compuestos como inhibidores de la geminación de semillas. Todas las semillas y frutos que se conocen con alto contenido de alcaloides son inhibidores potentes de la geminación de semillas y los alcaloides son la principal, o la única, causa de la inhibición. Este autor, enumeró los siguientes

inhibidores potentes de germinación de las semillas, la cocaína, la cafeína, la quinina, estricnina, berberina, la codeína.

Sampietro (2003), señala que los algunos tipos de alcaloides también son insecticidas, como por ejemplo la nicotina y la cafeína.

Según Haig (2008), los alcaloides de las plantas se encuentran ampliamente distribuidos en familias como *Fabaceae*, *Apocynaceae*, *Boraginaceae*.

A modo de ejemplo, la cebada exuda por sus raíces la gramina, compuesto alelopático que inhibe el crecimiento de *Stellaria media* (Sampietro, 2003). La gramina también es citada por Haig (2008) junto a la hordenina como compuestos liberados por el sistema radicular de la cebada cuando crece en cultivo hidropónico junto con *sinapsis alba* (mostaza blanca). Los productos pmencionados alcanzan concentraciones de 22 a 48ppm, causando una reducción significativa del largo de raíz de la planta testeada.

El rango de blancos de los alcaloides incluye funciones de enzimas claves, fotosíntesis, respiración, transcripción, síntesis de proteínas, estabilidad de membranas, transducción de señales, transporte de electrones y replicación.

Los compuestos llamados ácidos hidroxámicos o benzoxazinonas forman un grupo que ocurre naturalmente en las familias de plantas como *Acanthaceae*, *Poaceae*, *Ranunculaceae*, y *Scrophulariaceae* (Sicker y Schulz, citados por Haig, 2008) y tienen especial interés por su acción en la defensa de las plantas contra un rango de organismos atacantes como insectos, microorganismos, y otras plantas. Esta propiedad ha estimulado el interés en destacar esta habilidad en importantes cultivos como maíz, trigo, y lino que poseen estos compuestos.

De acuerdo a la bibliografía se ha podido demostrar que un gran número de diferentes metabolitos secundarios ejercen son potenciales aleloquímicos, y que muchas veces es difícil determinar cuál es el responsable a pesar de poder ver la actividad al evaluarlos.

2.1.3. Usos de la alelopatía

La historia de la agricultura esta íntimamente asociada con la manipulación por parte del hombre de las plantas y los ecosistemas con el objetivo de aumentar los rendimientos y la calidad de los cultivos. La selección

de semillas superiores, hibridación y prácticas innovadoras como control de malezas, riego, manejo de la fertilidad del suelo y de la rotación de cultivos, han permitido que durante la segunda mitad del siglo XX sucediera a nivel mundial, un aumento sustantivo de los rendimientos de los cultivos con destino a consumo humano. Este fenómeno denominado revolución verde, asociado al uso extensivo de variedades de alto rendimiento, organismos genéticamente modificados y agroquímicos, trae consigo un terrible costo ambiental por degradación y alta cantidad de insumos introducidos, que la torna insostenible (Allison y Hobbs, citados por Mallik, 2008).

Las similitudes entre aleloquímicos naturales y herbicidas en el efecto supresivo sobre plantas sugieren a la alelopatía como la vía alternativa al uso de productos sintéticos.

Según Einhelling y Leather (1988), las posibilidades de explotar la alelopatía incluyendo la manipulación genética de las especies cultivadas, incrementa la capacidad para el control de malezas en los diferentes agroecosistemas.

Putnam (1988) indica que probablemente el lugar más pobre para buscar dicha característica es sobre el material genético comercialmente utilizado en la actualidad dado que estas plantas han sido seleccionadas por vigor de sus semillas y otras características deseables de crecimiento que determinan mayor rendimiento, lo que puede haber eliminado atributos deseables como la alelopatía. Hay consenso general en cuanto a esta temática.

De todas formas, Einhelling y Leather (1988) explican que dicho fenómeno en girasol no ha podido ser comprobado. Rotaciones de girasol-avena, evaluadas durante cinco años mostraron una significativa reducción de las poblaciones de malezas de tipo hoja ancha y pastos menores por el hecho de incluir girasol. De todas formas la densidad de malezas aumenta al transcurrir los cinco años de rotación pero siempre en menor cantidad que en el caso de no incluir el girasol. No se encontraron diferencias en el enmalezamiento entre diferentes cultivares de girasol, y entre chacras con y sin aplicación de herbicida EPTC.

Para regular la expresión de los genes, lo más importante es identificar los aleloquímicos deseados, las enzimas y genes que los decodifican e insertar los promotores específicos en plantas de cultivos en orden de aumentar la producción de aleloquímicos (FAO, 2004)

2.2. EVIDENCIA DE ALELOPATÍA EN PLANTAS AGRÍCOLAS

Putnam (1988) explica que los efectos deletéreos de diversos cultivos y malezas en suelos de chacra se observaron desde tiempos ancestrales por griegos y romanos.

En el siglo XIX DeCandolle, citado por Rice (1974), Putnam (1988) sugirió que la rotación de cultivos puede reducir la “enfermedad del suelo” causada supuestamente por la liberación de toxinas al suelo por diversos cultivos. Este mismo sugirió que los exudados de raíces de determinadas malezas podrían dañar a plantas cultivadas y que problemas de lo que se creía eran “enfermedades de suelo”, podían deberse a exudados de plantas cultivadas, más que nada en sistemas de monocultivo intensivo.

Putnam (1988) sugiere la presencia de potencial alelopático para cerca de 90 especies de malezas. Mientras que para algunas es bastante convincente para otras tal adjudicación no ha sido probada. En el caso de las malezas la mejor evidencia es presentada para residuos de algunas de las especies perennes más agresivas. Por ejemplo *Elymus repens*, *Cyperus esculentus* L. y *rotundus* L.) y *Sorghum halepense*. Compuestos como flavones, sesquiterpenoides, y compuestos cianogénicos están implicados en estos casos.

En lo que respecta a especies cultivadas, algunos experimentos demuestran efectos alelopáticos durante la descomposición de residuos de diversos cultivos utilizados frecuentemente tales como maíz, avena, trigo, sorgo, tabaco, etc. (Patrick y Koch, citados por Rice, 1974). La toxicidad de los residuos depende de las condiciones del suelo (saturado no saturado), de la textura del suelo, del contenido de materia orgánica, del tipo de residuo, del estado de madurez del residuo incorporado, del ph del residuo, y otras.

Guenzi y McCalla, citados por Rice (1974) colectaron residuos de chacras, tales como paja de trigo y de avena, heno de soja y de *sweet clover*, tallos de sorgo y de maíz, y tallos de *sweet clover* y de cebadilla. Todos los residuos demostraron contener sustancias solubles al agua que deprimen el crecimiento de las plantas cultivadas maíz, trigo y sorgo. También ha sido demostrado que residuos del arroz como paja y harina de arroz, puede ser directamente usado con propósito de control de malezas (FAO, 2004).

Se ha demostrado la presencia de actividad alelopática en cultivos durante el tiempo que el mismo se encuentra establecido, es decir durante la

liberación activa de los compuestos tóxicos. En este sentido se encuentran las siguientes evidencias:

El trigo (*Triticum aestivum*) uno de los cultivos mas importantes a nivel mundial, ha sido estudiado en profundidad por su potencial alelopático en el control de malezas. Durante la última década la investigación ha avanzado rápidamente, y ha cubierto diversas áreas incluyendo el monitoreo del germoplasma de genotipos de trigo ancestral en orden de aumentar el potencial alelopático (Wu et al. 2001, Bertholdsson 2005), la identificación de agentes alelopáticos y la distribución de estos compuestos dentro de la planta. La investigación ha avanzado al estudio de la fitotoxicidad de los aleloquímicos individualmente y colectivamente, su degradación en el suelo, y la ecotoxicología de estos compuestos. Tecnologías moleculares se han empleado para el estudio de la herencia de los compuestos alelopáticos, para identificar los marcadores genéticos asociados con la alelopatía del trigo (Wu et al., 2001).

Bensch et al. (2007), determinaron el potencial alelopático de cincuenta cultivares de trigo utilizados en Chile sobre ballica anual (*Lolium rigidum*) var. Wimmera. Los resultados evidenciaron que los cincuenta cultivares de trigo ejercieron efecto alelopático inhibitorio significativo sobre el crecimiento radical de *Lolium rigidum* var. Wimmera. El rango de inhibición varió entre 80 y 20%, con 50% de los cultivares por sobre el 50% de inhibición. La inhibición (%) del largo radical se calculó en relación al testigo constituido por la confrontación ballica-ballica.

En arroz, se han identificado 412 muestras, entre 12.000 muestras originadas en 31 países, que poseen actividad alelopática sobre *Heteranthera limosa* (sw.) Willd. Estas muestras eran genéticamente diversas indicando que el potencial alelopático está ampliamente presente en el germoplasma de arroz. Las variedades tropicales de arroz *javanica* han mostrado poseer un mayor potencial alelopático contra las malezas que otros arroces, especialmente contra *Echinochloa* spp (FAO, 2004).

Einhelling y Leather (1988) monitoreando chacras con cultivo de sorgo, encontraron que aquellas que en el verano anterior tuvieron cultivo de sorgo, presentaron 40% menos cobertura de malezas de la que se registró en otras chacras. Este efecto se debió a la reducción de las malezas de tipo hoja ancha más que gramíneas, y principalmente por una inhibición de su crecimiento de plántula y desarrollo posterior, más que inhibición de la germinación dada por las semillas del sorgo.

En Brasil, Trezzi y Vidal (2004) condujeron dos experimentos, en la Facultad de Agronomía de la UFRGS, con el objetivo de determinar los efectos de la cobertura muerta de plantas de sorgo y de milheto sobre la supresión de malezas. Los resultados mostraron que niveles de paja de sorgo de $1,3\text{tt ha}^{-1}$ fueron suficientes para reducir 50% de las infestaciones de *Brachiaria plantaginea* y de *Sida rhombifolia* el primer año de experimentación. En el segundo experimento, 4 toneladas $\cdot \text{ha}^{-1}$ de paja de sorgo redujeron 91%, 96% y 59% de la población total de *Brachiaria plantaginea*, de *Sida rhombifolia* y *Bidens pilosa*, respectivamente. También concluyeron que la presencia de residuos de parte aérea de sorgo es más importante en la supresión de malezas que la presencia de residuos de las raíces de ese cultivo.

Centeno (*Secale cereale*) es un cultivo conocido por ser alelopático contra muchas especies de maleza. Existe evidencia de que la habilidad de suprimir malezas por este cultivo es comparable al efecto de los tratamientos herbicidas (Shilling et al., citados por Meredith, 2008). Esto es dado por un conjunto de sustancias tanto en la planta viva como en los residuos de su descomposición. Barnes et al., citados por Einhellung y Leather (1988), reportaron que la biomasa de malezas en un cultivo de centeno vivo es reducida en un 90% con respecto al testigo sin cultivar.

Blanco et al. (2007), estudiaron el efecto de diferentes concentraciones de extractos acuosos de girasol (*Helianthus annuus*, L.), frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) y boniato (*Ipomoea batata*, L.) sobre el desarrollo y crecimiento inicial de frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.). Cuando el 70% de las plantas germinaron se realizaron las determinaciones. Estas fueron: porcentaje de germinación de semillas, supervivencia de plantas, longitud de tallos y raíces, materia seca y fresca de tallos y raíces. Los extractos vegetales utilizados no afectaron la longitud de raíces del frijol común, excepto los residuos de girasol que en concentraciones de 5%, 15% y 20% disminuyeron drásticamente su longitud. En cuanto a materia seca y fresca del tallo y las raíces hubo diferencias con el testigo (agua destilada en sustitución del extracto vegetal). Los valores obtenidos en materia seca y fresca del tallo y raíces presentaron similar comportamiento que en el caso de longitud. La escasa masa y el volumen que pudieron aportar las pequeñas plantas, podrían haber enmascarado el resultado final; sin embargo las valoraciones hechas a partir de los resultados obtenidos permiten reflexionar que los cuatro cultivos evaluados parecen poseer cierto efecto alelopático sobre el frijol común, incluyendo su autotoxicidad. Por otra parte se pudo constatar que el girasol mostró un marcado potencial como planta alelopática, cuyo efecto podría variar en función de la concentración de la solución acuosa.

Como la mayoría de los cereales, la cebada (*Hordeum vulgare*) ha demostrado poseer propiedades alelopáticas. En estudios recientes sustancias alelopáticas como el ácido p-hydroxibenzoico, ácido cumárico, se encontraron en altas concentraciones en exudados de raíces de cultivares muy competitivos frente a cultivares con menor capacidad de competencia (Haig, 2008)

Por otra parte, Bertholdsson (2005) plantea que hay evidencias de que más de cien años de selección y mejoramiento en cebada han resultado en la dilución de genes de ancestros que consecuentemente declinan la actividad alelopática. Concluye que esta característica y la habilidad competitiva continuarán decayendo en el germoplasma de cebada en el futuro si no se realizan selecciones directas por estas características.

En la revisión realizada por Blanco en 2006, acerca de los antecedentes en cebada, se menciona la comprobación de que extractos acuosos de semillas y raíces de cebada tuvieron efectos inhibitorios sobre la germinación de *Stellaria media* y sobre *Capsella bursa-pastori*. Se observó, que los extractos de raíces vivas eran más efectivos que los extractos de raíces muertas, lo que indicaba una secreción metabólica de sustancias alelopáticas que causaban inhibición en el crecimiento.

Otra evidencia de la cebada como uno de los cultivos con potencial alelopático es bien documentada en la Universidad de Nueva Inglaterra en Armidale por Jones et al. (1999). Los autores estudiaron el efecto de la utilización de residuos de la cosecha para controlar las malezas. Los ensayos consistieron en parcelas sembradas con cebada, canola, garbanzos, guisantes, y sorgo más un barbecho como control. Se sembraron cuatro especies de malezas objetivo después de estos cultivos. Se evaluó la supervivencia y la producción de materia seca de las malezas. En general, con la excepción de los guisantes, se encontró que todos los residuos son capaces de reducir malezas en crecimiento. La cebada se mostró como el residuo de cultivo más inhibitorio reduciendo la materia seca de las malezas un 64% en el caso de residuos incorporados y un 47% cuando el tratamiento era residuos en la superficie. Si bien los autores señalan que los residuos pueden desempeñar un importante rol en el crecimiento de las malezas reduciendo la luz o por impedimento físico, las diferencias en producción de materia seca de las malezas se atribuyeron a la actividad alelopática, en los casos en que los residuos constituían barreras físicas similares.

Bertholdsson en el año 2004, realizó un experimento en orden de determinar la capacidad de competencia de cultivares de trigo y cebada sobre *L. perenne*. Según el autor numerosos estudios muestran que el vigor inicial y otras características asociadas al mismo como tamaño del embrión, el tamaño

de semilla, y el crecimiento y emergencia de la plántula, son probablemente los factores más importantes que explicarían las diferencias en competitividad sobre malezas; a pesar de esto, se estudió en el experimento la biomasa de las primeras dos semanas post emergencia como medida del vigor inicial. Parámetros adicionales fueron medidos como largo del tallo al estado de crecimiento Z37–Z39, y también altura de planta estirada porque es una característica estándar de la planta utilizada en numerosos modelos de herbicidas. Datos de anthesis y madurez fueron también incluidos para determinar su correlación con el vigor inicial. Finalmente la determinación del potencial alelopático se realizó en condiciones de laboratorio en crecimiento conjunto de las especies dadora y receptora sobre medio artificial agar-agua. Los índices se crearon de acuerdo al método planteado por el autor que se describe en el punto 2.1.4.2

Los resultados revelaron que la biomasa inicial del cultivo y el potencial alelopático parecen ser los únicos dos parámetros que contribuyen a la competitividad del cultivo sobre la maleza. En cebada la biomasa en etapas iniciales explicó entre 24–57% de la variación genotípica, la actividad alelopática explicó entre 7–58%, y el efecto combinado de ambos factores explicó entre el 44–69% de la variación genotípica. En trigo los efectos fueron menores 14–21% para biomasa del cultivo en etapas tempranas, 0–21% para actividad alelopática y 27–37% cuando los efectos son combinados. Las predicciones a partir del modelo confeccionado sugieren que nuevos cultivares con alto vigor inicial y actividad alelopática ofrecen gran potencial para la reducción de la interferencia por malezas.

En el año 2005, Bertholdsson evaluó nuevamente el potencial alelopático de cebada en diversos cultivares sobre *Lolium perenne*. En esta oportunidad, los cultivares provenían de diferentes partes del mundo. Los parámetros medidos fueron largo de raíz de raigrás y área de raíz de raigrás a los 7 días de crecimiento conjunto con cebada. Los resultados mostraron una inhibición del largo de raíz de raigrás entre un 42 al 70%. El método utilizado fue el mismo que se menciona en el párrafo anterior.

Asghari y Tewari (2007) estudiaron el efecto de extractos acuosos de cebada sobre las especies maleza *Brassica juncea* y *Setaria viridis*. Los extractos provinieron de ocho cultivares de cebada obtenidos en la Estación de Investigaciones Agrícolas de Alberta (Canadá). Sobre la maleza se midieron los parámetros porcentaje de germinación, largo de raíz y largo del brote de plántulas. Se encontraron efectos significativos de la especie maleza, de la concentración de extractos y del cultivar utilizado. Al aumentar la concentración del extracto, las medidas de longitud de radícula y brote de las plántulas, y el porcentaje de germinación de las semillas de maleza se alejaban del valor del

testigo (sin extracto acuoso). Para cuantificar el efecto de los cultivares de cebada sobre la germinación de la maleza y su largo radicular y del brote, se agruparon en tres categorías, cultivares con alto, medio y bajo potencial alelopático, que presentaron inhibiciones de 76, 57 y 50% respectivamente en relación al testigo.

Otros ejemplos de supresión de plantas cultivadas sobre malezas se encuentran en soja, *Echinochloa crusgali*, alfalfa, trébol rojo (Einhelling y Leather, 1988).

2.2.1. Métodos para la evaluación de alelopatías en cultivos

El desarrollo de cultivares alelopáticos como una posible estrategia para el manejo integrado de malezas ha promovido la búsqueda de genotipos con alta actividad alelopática. Por esta razón han sido diseñados numerosos bioensayos bajo condiciones de laboratorio buscando minimizar los requerimientos de tiempo, espacio, y también, que la actividad alelopática no sea confundida con fenómenos de competencia que ocurren especialmente en condiciones de campo (Wu et al., 2001).

Los métodos que se presentan a continuación fueron los revisados para la realización del presente estudio en cebada.

2.2.1.1. "Equal compartment agar method (ECAM)"

Este método propuesto por Wu et al. (2001) se desarrolló para estudiar la alelopatía de trigo sobre raigrás anual, *Lolium rigidum*. El experimento consiste en: pregerminar brevemente semillas de la especie donante (trigo), las cuales son uniformemente seleccionadas y asépticamente sembradas en una superficie de agar. Se disponen en tres filas en una mitad del recipiente plástico que contiene la solución de agar-agua y sin nutrientes. El recipiente es cubierto con film adherente y se coloca en un gabinete de crecimiento controlado. Luego del crecimiento de las semillas de trigo durante 7 días, semillas pregerminadas de la especie receptora se siembran en la otra mitad del recipiente plástico sobre la superficie del agar, al igual que el trigo, en 3 hileras. Un trozo de cartulina blanca previamente autoclavada, es colocado en el centro del recipiente de forma que el límite inferior del trozo de cartulina quede 1 cm por encima de la superficie del agar. Es así que el recipiente queda dividido en 2 compartimentos iguales donde en uno crece la especie dadora y en otro la receptora. El recipiente es nuevamente envuelto en papel film y se coloca en cámara de crecimiento controlado por 10 días más. Luego de ese período de

co-crecimiento de semillas de la maleza y el cultivo, las semillas de ambos son retiradas para tomar medidas de parámetros de crecimiento.

Varios autores advierten que en general resulta un método engorroso de difícil manejo.

2.2.1.2. Método propuesto por Bertholdsson

Este es el método que fuera utilizado por Bertholdsson (2004, 2005) para la evaluación de alelopatía en cultivares de cebada.

Se utilizan recipientes de plástico de capacidad 400 ml, en los cuales se colocan 30 ml de una solución agar-agua al 0,3%. Luego seis semillas de cebada pre-germinadas por 2 días son sembradas sobre el agar circularmente contra la pared del recipiente; y diez semillas de raigrás (*Lolium perenne*) pregerminadas por tres días son también sembradas en círculo, pero en el centro del recipiente. Estos se tapan posteriormente y se colocan en cámara de crecimiento con un ciclo de luz/oscuridad de 16/8 hs, a temperatura de 20°C, y con luz inflorescente de 52 μ mol*m⁻² s⁻¹. Luego de 7 días se mide el área de raíz del raigrás perenne (DIAS Delta-T Devices, Cambridge, UK). Recipientes solo con raigrás perenne son usados como testigos. Las raíces de cebada se secan a 80°C por 48 hs y se determina el peso seco. El potencial alelopático (PAA) se calcula como $PAA=(1-A1/A2)*100$, siendo A1=área radicular de *Lolium perenne* crecido con cebada, A2= área radicular de *Lolium perenne* crecido sin cebada. En base al PAA se calcula el SPAA potencial alelopático específico como $SPAA= PAA/ \text{peso seco de la cebada por planta}$.

El método se utilizó para la evaluación del potencial alelopático de 127 cultivares de cebada, provenientes de diferentes regiones del mundo sobre *Lolium perenne*.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. INSTALACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS

3.1.1. Ubicación

Los experimentos fueron conducidos en la Estación Experimental Dr Mario A. Cassinoni, Facultad de Agronomía durante los meses de junio y julio de 2009, en los laboratorios del Departamento de Protección Vegetal.

3.2. TRATAMIENTOS

El experimento totalizando 13 tratamientos fue repetido en 3 oportunidades. En todos casos se utilizaron 4 repeticiones por tratamiento consistiendo estos en la evaluación de los efectos de doce cultivares de cebada (especie dadora) en el crecimiento de raigrás (especie receptora) y un tratamiento testigo con solo raigrás, tal como se detalla a continuación. Cabe aclarar que el cultivar CLE 202 no fue considerado en la evaluación del experimento No. 3 debido a que presentó serios problemas con hongos; esto hace que en dicho experimento el total de los tratamientos sea de 12 cultivares.

Cuadro 1: Descripción de los tratamientos

	Tratamientos	Dadora	Receptora
T1	Testigo	Raigrás	Raigrás
T2	CLE 202),		
T3	Dayman		
T4	Arrayán		
T5	Danuta		
T6	Carumbé		
T7	Guaviyú		
T8	Ambev 23,	Cebada	Raigrás
T9	Ambev 31,		
T10	MUSA 59531,		
T11	Conchita		
T12	Quebracho,		
T13	Magnific 104		

Los primeros seis cultivares, son los más utilizados en el país y ocupan el 80% del área sembrada con cebada. Los siguientes cuatro cultivares de la lista presentada en el cuadro son cultivares considerados promisorios que actualmente están en evaluación en el Programa de Evaluación de Cultivares de la Facultad de Agronomía. El cultivar Quebracho, se seleccionó debido a que es un material utilizado consistentemente como testigo en la investigación relativa a evaluación de cultivares de cebada en la Facultad de Agronomía.¹

El cultivar Magnific 104 fue utilizado durante la década del `40², y está emparentado con CLE 202 (INIA Ceibo). Fue incluido como otro testigo, en la hipótesis de que materiales actuales seleccionados por criterios de rendimiento, características de crecimiento, comportamiento sanitario y otras, han perdido atributos como puede ser el potencial alelopático.

¹ Hoffman, E. 2009. Com. personal.

² Castro, A. 2009. Com. personal.

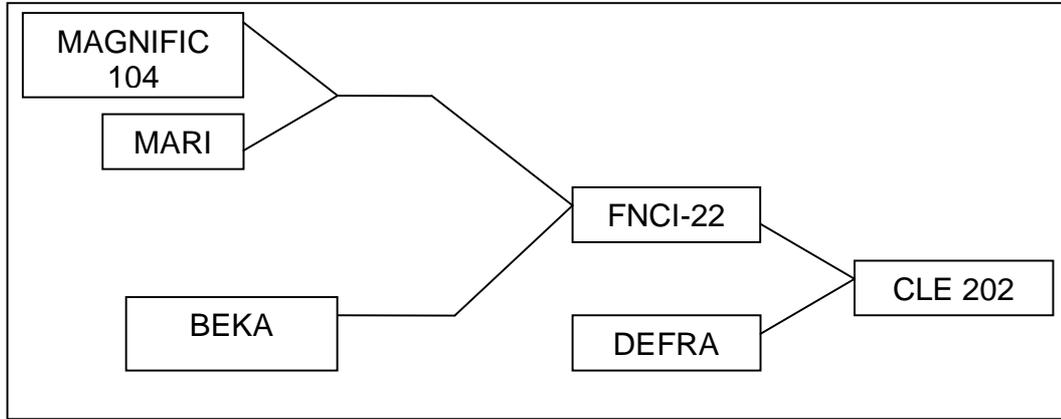


Figura 1: Relación parental del cultivar CLE 202 con Magnific 104

3.2.1. Información relativa a los cultivares utilizados

El siguiente cuadro resume las características de crecimiento más importantes de los cultivares utilizados en los experimentos.

Cuadro 2: Características de crecimiento de los cultivares utilizados

Cultivar	Crec. inicial	Potencial de macollaje	Sincronización	Respuesta al FP	Largo de ciclo
CLE 202	Lento	Alto	Alta	Alta	Largo
Dayman	Int.	Int.- Alto	Alta	Int.	Int.- Corto
Arrayán	Lento	Alto	Alta	Alta	Largo
Danuta	Int.	Alto	Int.-Baja	Baja	Largo
Carumbé	Alto	Int.-Bajo	Baja	Baja	Int.- Corto
Guaviyú	Alto	Int.-Bajo	Baja	Baja	Int.- Corto
AMBEV 23*	Alto	Alto	¿	¿	Largo
AMBEV 31	Int.- Alto	Int.-Alto	Alta	Int.	Int.- Corto
MOSA 59531	Int.	Int.	Int.-Baja	¿	Int.
Conchita*	Int.- Bajo	Alto	¿	¿	Largo
Quebracho	Lento	Alto	Alta	Alta	Corto
Magnific 104					

*cultivares que solo poseen un año de evaluación.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño del primer experimento fue un modelo completamente al azar (DCA), con 40 repeticiones y trece tratamientos.

El segundo y tercer experimento fue realizado con diseño bloques completamente aleatorizados (DBCA).

En consideración que dentro de la cámara la luz y la temperatura no son homogéneas, se incluyeron 4 bloques según se detalla:

- Bloque 1: Alta luz, alta temperatura
- Bloque 2: Alta luz, baja temperatura
- Bloque 3: Baja luz, alta temperatura
- Bloque 4: Baja luz, baja temperatura

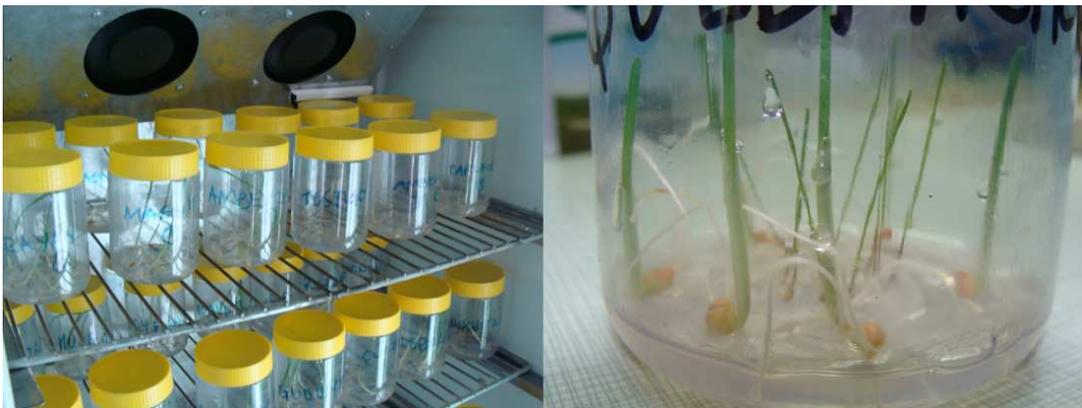


Foto 1: Disposición de los recipientes en bloques dentro de la cámara de crecimiento controlado (temperatura 20°C- 8/16 hs luz oscuridad).

Las variables de interés medidas en este trabajo fueron “largo de raíz de raigrás (cm)”, “peso seco de la parte aérea de raigrás (gr)” y “peso seco de la raíz de raigrás (gr)”. En el primer experimento se midió únicamente la primera. A partir de estas variables se construyeron los índices de actividad alelopática potencial, AAP1, AAP2 y AAP3.

$$AAP1 = 1 - (\text{largo raíz raigrás cultivar} / \text{largo raíz raigrás testigo})$$

AAP2 = 1 - (materia seca raíz de raigrás cultivar/materia seca raíz raigrás testigo)

AAP3 = 1 - (materia seca parte aérea raigrás cultivar/ materia seca parte aérea raigrás testigo)

3.4 METODOLOGÍA E INSTALACIÓN

Como se explicara anteriormente, un mismo experimento fue instalado tres veces.

El método elegido para desarrollar los experimentos se basó en el planteo de Bertholdsson (2003), al que se le introdujeron algunas modificaciones tal como se detalla a continuación.

Selección y tratamiento de semillas

Las semillas de raigrás (*Lolium multiflorum*) procedían de la infestación natural de una chacra del área de producción de la Estación Experimental y estaban presentes como maleza en la cosecha de una avena del año 2008.

En la metodología propuesta por Bertholdsson (2003), las semillas consideradas libres de enfermedades no son tratadas con ningún método antiséptico. En el presente trabajo se incluyó un tratamiento tal como propuso Wu (1999). Las semillas fueron sumergidas en alcohol al 70% durante 2,5 minutos y luego 15 minutos en hipoclorito de sodio al 2%. Después de tratadas con cada solución fueron enjuagadas en agua desionizada 4 veces.



Foto 2: Tratamiento aséptico de las semillas

Este tratamiento fue utilizado para la instalación del primer experimento con éxito pero al proceder a la repetición del mismo fue necesario descartar los ensayos en dos oportunidades debido a una importante aparición de hongos. Por ésta razón en los siguientes experimentos las semillas de cebada fueron tratadas con fungicida cuyo principio activo es el Flutriafol (producto comercial VINCIT 5 FN), en dosis de 0,015 ml de fungicida en 3,6 ml de agua cada 360 semillas.



Foto 3: Modificación del tratamiento aséptico propuesto por Wu (1999) para semillas dadoras.

Luego del lavado en el experimento 1 y de la aplicación de solución fungicida en los otros dos, las semillas fueron colocadas a germinar en una cámara a 25°C en oscuridad, durante 48hs para cebada y 72hs en el caso de raigrás.



Foto 4: Pregerminado de las semillas de raigrás y cebada en estufa a 25°C.

Preparación del medio receptor

Las semillas de cebada y raigrás, pre-germinadas, fueron colocadas en un medio de crecimiento en recipientes plásticos de 400 ml de capacidad, 8 cm

de diámetro y aproximadamente 10 cm de alto previamente esterilizados en cámara con rayos UV, actuando durante 30 minutos.

El medio de crecimiento fue una solución agua-agar al 0,3%, esterilizada en autoclave y fue dispensado en los tarros plásticos en cámara de flujo en cantidad de 30 ml.



Foto 5: Preparación del medio receptor agua-agar

La siembra se llevó a cabo en cámara de flujo para evitar contaminación disponiendo las semillas cuidadosamente en el medio receptor contenido en los recipientes plásticos. Seis semillas de cebada se colocaron en cada tarro en círculo contra la pared del mismo y diez de raigrás se dispusieron en un círculo interior al de las cebadas.



Foto 6: Semillas pre-germinadas de raigrás y cebada sembradas en superficie de medio agua-agar.

La siembra se llevó a cabo en cámara de flujo para evitar contaminación disponiendo las semillas cuidadosamente en el medio receptor contenido en los recipientes plásticos. Seis semillas de cebada se colocaron en cada tarro en círculo contra la pared del mismo y diez de raigrás se dispusieron en un círculo interior al de las cebadas (Ver foto 10).

3.5. DETERMINACIONES

Los tres experimentos fueron desinstalados al cabo de los siete días cuando se procedió a estimar el largo de la radícula de raigrás. A tales efectos se estiró la raíz principal sobre una cuadrícula milimetrada como se observa en la foto que sigue:



Foto 7: Determinación del largo de radícula del raigrás en hoja milimetrada.

Luego de esta determinación, el total de raíces y parte aérea de raigrás en cada recipiente (parcela) fue colocado en sobres de papel y llevado a estufa a 40°C durante 72 hs, a los efectos de estimar peso seco.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Todas las variables medidas son continuas y se analizaron en función del diseño de cada experimento.

Modelo experimento 1 (DCA):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_i$$

Modelo experimentos 2 y 3 (DBCA):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} es la variable de respuesta

μ es la media general

T_i es el efecto del i -ésimo tratamiento (cultivar)

β_j es el efecto del j -ésimo bloque

ε_{ij} es el error experimental

Cuando el efecto de los cultivares fue significativo, la separación de medias fue realizada a través de la prueba de Tukey.

Para encontrar grupos de cultivares que fueran más parecidos en todos los índices medidos y en todos los experimentos, se realizó un Análisis de Agrupamiento ("Cluster Análisis"). Este método multivariado, forma grupos de cultivares que tengan un mayor número de coincidencias entre sí, separando aquellos que son diferentes. Este procedimiento lo realiza calculando primero una medida de distancia multivariada considerando la distancia de todas las variables de cada cultivar con respecto a los demás, construyéndose así una matriz de distancias. Basados en esa matriz de distancia, se unen por un algoritmo las distancias más cercanas, formándose de esta manera los grupos. La distancia usada en este caso fue la distancia euclidiana y el método de asociación fue el método de Ward (Everitt, 1980).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EXPERIMENTO 1

Como se comentara en materiales y métodos, en el experimento 1 se midió únicamente la variable longitud de la raíz en la especie receptora, *L. multiflorum*, dato a partir del cual se calculó el índice AAP1. Los resultados de esta evaluación se muestran en el cuadro siguiente (Cuadro 3).

Cuadro 3: Longitud de raíz de la especie receptora (cm) y valor del índice AAP1 para los tratamientos ensayados en el Experimento 1

Cultivar dador	Longitud raíz receptora (raigrás) (cm)	AAP1
TESTIGO	4,10 a (*)	0 a
CLE202	2,94 ab	0,27ab(*) ab(**)
DAYMAN	3,46 ab	0,15 ab ab
ARRAYAN	2,76 b	0,32 b b
DANUTA	3,12 ab	0,23 ab ab
CARUMBE	2,55 b	0,37 b b
GUAVIYU	3,20 ab	0,22 ab ab
AMBEV23	2,85 ab	0,3 ab b
AMBEV31	3,46 ab	0,12 ab ab
MOSA 59531	3,04 ab	0,26 ab ab
CONCHITA	2,99 ab	0,26 ab ab
QUEBRACHO	3,31 ab	0,19 ab ab
MAGNIFIC104	3,72 ab	0,1 ab ab
PROMEDIO	3,12	0,23

(*) Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($P < 0.05$)

(**) Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($P < 0.10$)

El ANAVA para esta variable detectó un efecto muy significativo de los tratamientos ($P=0,0056$) indicando que los cultivares afectaron diferencialmente el largo de la raíz de raigrás. La reducción promedio para esta variable en esta estimación considerando todos los cultivares ensayados fue de 23%.

Observando los resultados del test de separación de medias puede verse que la mayoría de los tratamientos (10) mostraron un comportamiento intermedio sin diferenciarse del testigo ni de los tratamientos que determinaron longitudes de raíces de raigrás significativamente menores, que fueron Arrayán y Carumbé.

El AAP1 evaluado en los distintos tratamientos mostró, como era esperable, una tendencia similar determinándose reducciones superiores al 30% en los cultivares Arrayán, Carumbé y Ambev 23. Estos 3 cultivares se diferenciaron del testigo en la prueba de Tukey al 10% y sólo los 2 primeros cuando se consideró el 5% de probabilidad.

4.2. EXPERIMENTO 2

Los resultados para longitud de raíz y para el índice AAP1 calculado, correspondientes a este experimento se muestran en el cuadro siguiente.

Cuadro 4: Longitud de raíz (cm) y valor del índice AAP1 para los tratamientos ensayados en el Experimento 2.

Cultivar dador	Longitud raíz receptora (raigrás) (cm)	AAP1
TESTIGO	4,00 <i>a</i>	0 <i>a</i>
CLE202	3,55 <i>a</i>	0,11 <i>a</i>
DAYMAN	3,72 <i>a</i>	0,06 <i>a</i>
ARRAYAN	3,21 <i>a</i>	0,20 <i>a</i>
DANUTA	3,15 <i>a</i>	0,21 <i>a</i>
CARUMBE	3,16 <i>a</i>	0,21 <i>a</i>
GUAVIYU	3,06 <i>a</i>	0,24 <i>a</i>
AMBEV23	3,12 <i>a</i>	0,22 <i>a</i>
AMBEV31	3,07 <i>a</i>	0,23 <i>a</i>
MOSA 59531	3,72 <i>a</i>	0,06 <i>a</i>
CONCHITA	3,28 <i>a</i>	0,18 <i>a</i>
QUEBRACHO	3,30 <i>a</i>	0,18 <i>a</i>
MAGNIFIC104	3,18 <i>a</i>	0,20 <i>a</i>
PROMEDIO CULTIVARES	3,35 <i>a</i>	0,18

Como puede observarse las variaciones en la actividad alelopática potencial, fueron menores que en el experimento anterior, resultando una reducción promedio para los cultivares en este caso, de sólo 18%.

El ANAVA para estas variables no logro detectar efecto de tratamiento ($P > 0.10$) no pudiendo afirmarse que existiera algún cultivar afectando el crecimiento de la raíz de raigrás. Pese a lo comentado, analizando los valores absolutos se ve que los cultivares que mostraron actividad alelopática potencial

en el Experimento anterior se encuentran entre los cultivares determinando las mayores reducciones también en este ensayo (>20%).

Tampoco el análisis estadístico de los índices confeccionados con las estimaciones de materia seca de raíz y parte aérea de raigrás permitió identificar actividad alelopática en los cultivares, resultando no significativo el efecto de tratamiento en ambas variables ($P>0.10$).

Cuadro 5: Valor de los índices AAP2 y AAP3 para los tratamientos ensayados en el Experimento 2.

Cultivar dador	AAP2	AAP3
TESTIGO	0a	0a
CLE202	0,01 a	0,04 a
DAYMAN	0,04 a	-0,19 a
ARRAYAN	0,22 a	-0,08 a
DANUTA	0,04 a	-0,04 a
CARUMBE	0,26 a	0,03 a
GUAVIYU	0,25 a	0,14 a
AMBEV23	0,19 a	0,06 a
AMBEV31	0,07 a	-0,08 a
MOSA 59531	0,06 a	-0,12 a
CONCHITA	0,22 a	-0,01 a
QUEBRACHO	-0,07 a	-0,36 a
MAGNIFIC104	-0,03 a	-0,09 a
PROMEDIO CULTIVARES	0,10 a	-0,06 a

Igual que se comentara para el AAP1, en el caso de los indicadores AAP2 y AAP3, pese a no detectarse efectos estadísticamente significativos puede destacarse, fundamentalmente en el caso del AAP2, que tanto Arrayán como Carumbé y Ambev 23 muestran una tendencia similar a la observada para AAP1 presentando valores superiores al promedio. Inclusive Carumbé fue el cultivar con el mayor valor absoluto de reducción de la materia seca de la raíz.

Estos resultados coinciden con los citados en otros experimentos en la bibliografía. Es el caso de un estudio realizado por Blanco et al. (2007), sobre el efecto de diferentes concentraciones de extractos acuosos de girasol (*Helianthus annuus*, L.), frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) y boniato (*Ipomoea batata*,

L.) sobre el desarrollo y crecimiento inicial de frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L), donde los valores obtenidos en materia seca del tallo y raíces presentaron similar comportamiento o misma tendencia que en el caso de longitud de raíz.

En cuanto a los resultados para el índice AAP3, considerando los valores calculados en forma individual así como el promedio, resulta destacable la menor sensibilidad que presenta este indicador así como también, una mayor inconsistencia a nivel de cultivares que impide la corroboración de las tendencias observadas anteriormente. Inclusive aparecen para este indicador resultados negativos. Esta menor sensibilidad de la materia seca aérea ha sido también comentada por otros autores que obtuvieran resultados similares aunque en ningún caso se comenta en relación a las posibles causas o razones de esta menor sensibilidad cuando es comparada con la del crecimiento radicular.

4.3. EXPERIMENTO 3

El promedio de inhibición del crecimiento radicular del raigrás en este experimento resultó es otra vez un valor alto, similar al del Experimento No. 1. También se registraron nuevamente importantes reducciones como la de Ambev 23 y la de Guaviyú que superaron el 30%.

Cuadro 6: Índice AAP1 para los tratamientos ensayados en el Experimento 3.

Cultivar dador	AAP1
TESTIGO	0a
DAYMAN	0,02 <i>ab</i>
ARRAYAN	0,28 <i>ab</i>
DANUTA	0,21 <i>ab</i>
CARUMBE	0,19 <i>ab</i>
GUAVIYU	0,33 <i>ab</i>
AMBEV23	0,36 <i>b</i>
AMBEV31	0,11 <i>ab</i>
MOSA 59531	0,24 <i>ab</i>
CONCHITA	0,10 <i>ab</i>
QUEBRACHO	0,27 <i>ab</i>
MAGNIFIC104	0,22 <i>ab</i>
PROMEDIO CULTIVARES	0,21

(*) Medias con igual letra no difieren estadísticamente ($P < 0.05$)

El ANAVA detectó efectos de tratamientos y similarmente a lo observado en Experimento No. 1 se distinguen del testigo 11 tratamientos con un comportamiento intermedio y Ambev 23 como significativamente más alelopático.

El comportamiento de Guaviyú muestra consistencia con los resultados obtenidos en el segundo experimento en el que aún no comprobándose estadísticamente, se mostró como el cultivar con mayor potencial alelopático tanto en función de AAP1 como de AAP3 y el segundo en el ranking del indicador AAP2.

En relación a este último, los resultados del presente experimento y a diferencia de lo comentado en el experimento anterior, no mostraron consistencia con los correspondientes AAP1. El ANAVA no detectó efectos de tratamiento y tampoco el ranking de actividad alelopática potencial estimado por ese indicador guardó relación con el AAP1 cuando se consideran los valores absolutos. Importa destacar que en esta estimación se detectó una importante variabilidad lo cual determinó un coeficiente de variación del 62% para esta variable.

En cuanto al indicador AAP3 los resultados son difíciles de explicar. Aún cuando el ANAVA detectara significancia de los tratamientos en este caso el efecto se asocia con un incremento en la materia seca de los cultivares Conchita y Daymán. Los restantes tratamientos aun sin diferenciarse estadísticamente del testigo también presentan valores en esta variable superiores a los estimados en éste. Llamativamente los cuatro cultivares que se vieron asociados a efectos de actividad alelopática en los experimentos anteriores, Arrayán, Carumbé, Ambev 23, y Guaviyú, resultaron los más similares al testigo.

Sobre este punto, cabe mencionar que Blanco et al. (2007) citados en la bibliografía, señalan que "dado la escasa masa y el volumen que pueden aportar las pequeñas plantas, el resultado final podría enmascarse". Es pertinente recordar que también el experimento realizado en el presente trabajo se basó en el crecimiento inicial de las especies (dadora y receptora) realizándose las mediciones en plantas de apenas siete días de crecimiento.

Si bien los valores de materia seca de la parte aérea y raíz pueden presentar la misma tendencia que los obtenidos en el largo radicular y pueden ser un aporte al análisis del potencial alelopático, dado los resultados obtenidos en el experimento 3 y por las razones citadas en el párrafo anterior se considera que el mejor indicador de potencial alelopático es APP1.

4.4. ANÁLISIS CONJUNTO DE LOS TRES EXPERIMENTOS

Como se mencionara en materiales y métodos con el objetivo de estudiar posibles consistencias en el comportamiento de los cultivares en los tres experimentos se procedió a un análisis de conglomerados.

En la Figura 2 se presenta el dendrograma correspondiente obtenido utilizando los datos estandarizados de los 3 experimentos. Cabe detallar que las variables utilizadas fueron los índices AAP1 de los 3 experimentos y los índices AAP2 y AAP3 de los experimentos 2 y 3.

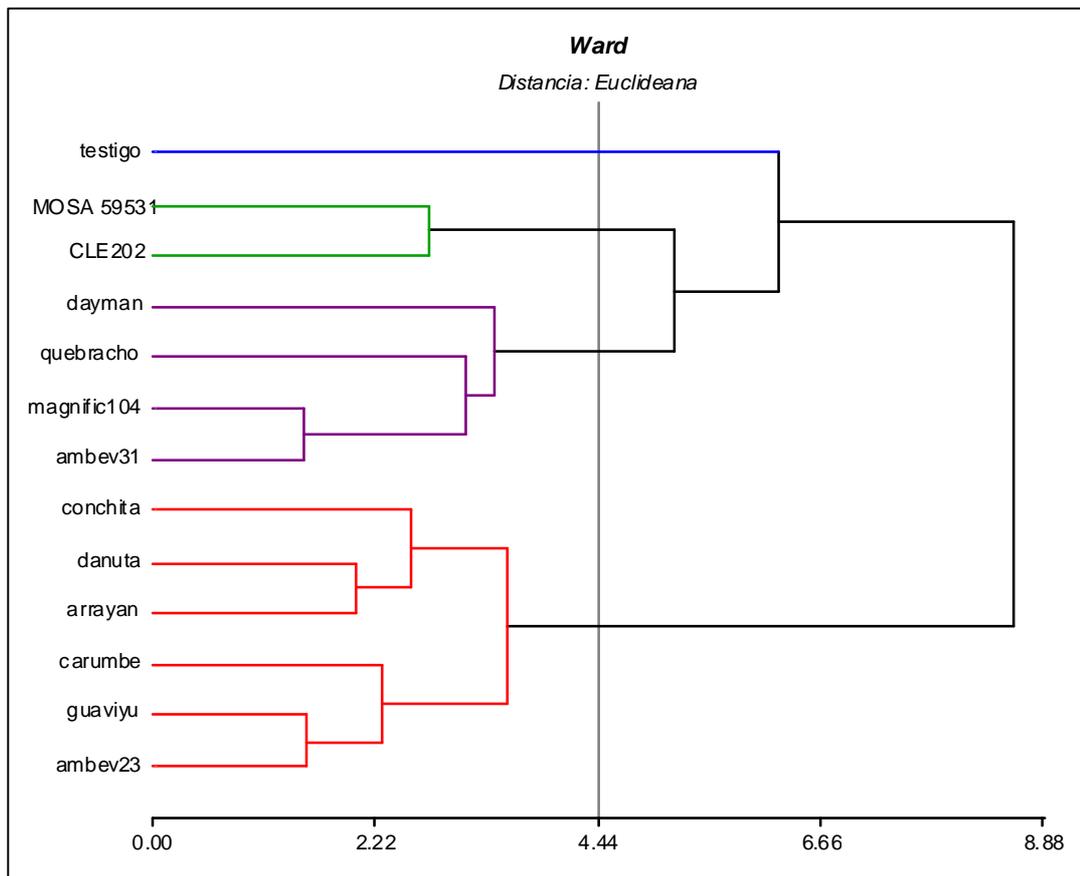


Figura 2: Dendrograma entre variedades de cebada, realizado con los índices relativos AAP1, AAP2 y AAP3 estandarizados, obtenidos en los 3 experimentos el primero y en los experimentos 2 y 3 los otros.

El testigo se observa como un grupo independiente y esto responde a que los índices son relativos a este tratamiento y a que las variables están estandarizadas.

Además del testigo, se distinguen otros 3 grupos. De éstos, los dos compuestos por los cultivares MOSA 59531 y CLE 202 por un lado y por Daymán, Quebracho, Magnific104 y Ambev 31 por otro, presentan mayores similitudes entre sí.

El tercer grupo compuesto por Conchita, Danuta, Arrayán, Carumbé, Guaviyú y Ambev23 nucleó los cultivares que mostraron más frecuentemente diferencias con el testigo.

Entre los dos primeros grupos mencionados están contemplados los cultivares que mostraron a lo largo de los 3 Experimentos mayor similitud al testigo. Para ninguno de estos cultivares pudo demostrarse actividad alelopática potencial significativa en ninguno de los experimentos y considerando el APP1 en ningún caso superaron el 30% de inhibición.

Dentro de este grupo figuran dos cultivares que se destacan por su relación parental lo que permite un análisis adicional en relación a la característica de actividad alelopática potencial. Según lo mencionado por Bertholdsson en la bibliografía, el mejoramiento genético en cebada pudo haber resultado en la dilución de genes ancestrales perdiendo los cultivares por esta vía, potencial alelopático. Los cultivares emparentados a los que se hacía referencia son Magnific 104 y CLE 202, siendo el primero “abuelo” del segundo.

El cultivar Magnific 104 resultó siempre estadísticamente similar al testigo, en los 3 experimentos y para cualquiera de los indicadores de actividad alelopática potencial estudiados. En función de estos resultados se puede afirmar que el potencial alelopático es una característica ausente en el material ancestro incluido en los experimentos.

El comportamiento de CLE 202 fue muy similar al de Magnific 104 lo cual lleva a pensar que el mejoramiento no ha modificado esta característica. Por lo tanto, la hipótesis de que esta característica por efecto de la selección genética se ha perdido no se podría confirmar. Podría agregarse que también es inferible que ningún otro ancestro le ha transferido tal propiedad.

En el tercer grupo, figuran los cultivares Ambev 23, Arrayán, Carumbé y Guaviyú que fueron los que mostraron en uno o más de uno de los experimentos actividad alelopática potencial. Cabe recordar que Guaviyú estuvo por encima del 30% de inhibición en largo de raíz en los experimentos 1 y 3 y

que Carumbé fue el que alcanzó el mayor valor situándose en un 37% de inhibición con respecto al testigo.

En cuanto a las características agronómicas de los cultivares del grupo en cuestión, como fuera mencionado en materiales y métodos, Carumbé, Guaviyú y Ambev 23 poseen en común un alto crecimiento inicial. La bibliografía es consistente en cuanto a que los cultivares que han demostrado capacidades elevadas de interferencia sobre malezas presentan en forma asociada esta característica de crecimiento inicial rápido y actividad alelopática potencial. Se destaca que los cultivares mencionados son los únicos del total utilizado que poseen crecimiento inicial alto así como que Magnific 104 y CLE 202, se asemejan en su crecimiento inicial que se clasifica como lento.

Los cultivares de mayor actividad, no solo poseen en común un alto crecimiento inicial, sino que también, Carumbé y Guaviyú tienen en común su lugar de origen. Ambos materiales provienen de North Dakota State University³.

En cuanto al potencial alelopático y su evolución a lo largo del tiempo, no se puede afirmar que es una característica que ha sido afectada por selección y mejoramiento genético, ya que en el grupo de mayor actividad alelopática potencial se encuentran cultivares de variada antigüedad. Se encuentra por ejemplo el cultivar Ambev 23 que todavía no se ha liberado al mercado y el cultivar Carumbé que ingresó Evaluación Nacional para el Registro de Cultivares en el año 1994⁴.

Finalmente, en cuanto a la magnitud de la reducción de la raíz de raigrás, se considera pertinente mencionar que ésta fue comparativamente menor a las reducciones encontradas en la bibliografía. Como se dijo, el valor máximo alcanzado en este trabajo fue 36% de inhibición; mientras que en el trabajo realizado por Bertholdsson en 2005, en el cual se basó la metodología del experimento realizado, las reducciones en la raíz de la especie receptora oscilaron entre 42 y 70%. Otro experimento similar, pero cuya especie dadora fue trigo y el cual utilizó la metodología planteada por Wu (2001) citada en la revisión bibliográfica, fue efectuado por Bensch et al. (2007), donde el rango de inhibición de la raíz radical varió entre 80 y 20%, con 50% de los cultivares por sobre el 50% de inhibición.

Las diferencias entre los resultados hallados en la bibliografía y los obtenidos en el presente trabajo se atribuyen a tres distintas razones. En primer lugar, a las diferencias genéticas. Sobre este punto, Bertholdsson (2005)

³ Díaz, J. I. 2010. Com. personal

⁴ Díaz, J. I. 2010. Com. personal

presenta en sus resultados diferencias en el potencial alelopático según el origen de los cultivares y comenta que la disminución en el tiempo del potencial alelopático ha sido más pronunciada en el germoplasma finlandés respecto a los de origen báltico, danés y sueco los cuales presentaron menor disminución del potencial alelopático. Teniendo en cuenta estas variaciones entre germoplasmas de distintos orígenes, se piensa que el germoplasma presente en nuestro país, podría tener menor potencial alelopático que los utilizados en los otros dos experimentos mencionados.

Otro factor importante capaz de explicar estas diferencias, citado en la bibliografía por Ferreira y Aquila (2000), es la especie receptora de la cual se trate. La resistencia o tolerancia a los metabolitos secundarios es más o menos específica existiendo especies más sensibles.

Si bien, en los dos experimentos con que se comparan los resultados obtenidos, el raigrás es también la especie receptora, debe explicarse que mientras que en el presente trabajo la especie receptora fue *Lolium multiflorum*, los raigrases utilizados por los autores Bertholdsson y Bensch fueron *Lolium perenne* y *Lolium rigidum* respectivamente.

Por último, otro factor también capaz de explicar las diferencias entre los trabajos, es la densidad. La importancia de la densidad es señalada en la bibliografía. Según Putnam (1988), la manipulación de densidades de semillas puede resultar en cambios en los efectos de la concentración de aleloquímicos. Al aumentar la densidad de plantas receptoras, la disponibilidad de toxinas por cada planta disminuye (efecto dilución).

Cómo se dijo, la metodología utilizada, aunque con modificaciones, fue la planteada por Bertholdsson (2004), siendo la densidad del ensayo realizado la misma que propone el autor. Sin embargo, otros ensayos de este tipo proponen utilizar densidades de especie receptoras similares a las de dadora Bensch et al. (2007) utilizaron 12 semillas de cada especie.

En base a esto y teniendo en cuenta que en situaciones de campo difícilmente se encuentran densidades de raigrás mayores a las de cebada, puede decirse, que la densidad utilizada en este trabajo fue alta considerando tanto la especie receptora como dadora, y existiendo la posibilidad de dilución.

5. CONCLUSIONES

- A partir del análisis combinado de los 3 indicadores (AAP1,AAP2,AAP3) y del conjunto de los experimentos se identificaron 6 cultivares con potencial actividad alelopática, Conchita, Danuta, Arrayán, Carumbé, Guaviyú y Ambev23.
- Los mayores efectos fueron detectados en los cultivares Ambev 23, Arrayán y Carumbé quienes alcanzaron reducciones en la longitud de raíz de raigrás superiores al 30%.
- No se pudo comprobar que el mejoramiento genético haya reducido el potencial alelopático puesto que el material ancestro incluido en el experimento no presentó potencial alelopático al igual que el descendiente estudiado
- El mejor indicador para estimar el potencial alelopático resultó ser AAP1 y el peor AAP3.

6. RESUMEN

Lolium multiflorum es una especie de maleza muy problemática en los cultivos de invierno, trigo y cebada, en el país. Su control es complejo debido al elevado costo de los herbicidas, los que además presentan ventanas de aplicación muy restringidas, alta dependencia climática en su actividad, potencial de daño al cultivo y riesgo de creación de resistencias, incentivando la búsqueda de alternativas al control químico. Cebada cervecera (*Hordeum vulgare*) ha demostrado presentar interesante capacidad de interferencia con malezas, lo cual se ha asociado a su rápido crecimiento inicial y/o potencial alelopático por lo que ha sido citada como una especie con grandes posibilidades de combatir el enmalezamiento por vías alternativas al control químico. El presente trabajo tuvo por objetivo estudiar el potencial alelopático de los cultivares de cebada de mayor uso en el país sobre raigrás. A tales efectos se instaló un mismo experimento repetido en 3 oportunidades durante los meses de junio y julio de 2009 en los laboratorios del Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC) perteneciente a la Facultad de Agronomía, Uruguay. Los tratamientos, dispuestos en un diseño experimental de bloques completamente al azar con 4 repeticiones consistieron en el crecimiento conjunto de raigrás con 12 cultivares de cebada (CLE 202, Dayman, Arrayán, Danuta, Carumbé, Guaviyú, Ambev 23, Ambev 31, MUSA 59531, Conchita, Quebracho y Magnific 104) y un testigo de sólo raigrás siguiendo la metodología propuesta por Bertholdsson (2004). Con las determinaciones de largo y peso seco de raíz de raigrás, y peso seco de la parte aérea del raigrás se calcularon indicadores de actividad alelopática potencial (AAP1, AAP2 y AAP3 respectivamente). En el primer experimento se obtuvo una reducción del crecimiento radicular de raigrás mayor al 30% cuando creció junto con los cultivares Arrayán, Carumbé y Ambev 23. En el experimento 2 no se detectaron efectos significativos y en el caso del experimento 3 el indicador AAP1 mostró a Ambev 23 como el cultivar significativamente más alelopático, presentando el resto de los cultivares un comportamiento intermedio. El indicador AAP3 en los experimentos 2 y 3, y el indicador AAP2 en el experimento 3 no mostraron un comportamiento consistente con el indicador AAP1 del mismo experimento ni de los anteriores. El análisis de conglomerados con los resultados de los 3 experimentos destacó a los cultivares Arrayán, Carumbé, Guaviyú y Ambev23 como alelopáticas. El mejor indicador para estimar el potencial alelopático resultó ser AAP1 y el peor AAP3.

Palabras clave: *Lolium multiflorum* L.; Potencial alelopático; Actividad alelopática potencial

7. SUMMARY

Lolium multiflorum is a specie that cause many problems in Uruguay for winter crops of wheat and barley. Its control is complex due to the high cost of herbicides, a very limited period of application, to a climate dependency on its activity, to the probability of damage the crop, and due to the risk of resistance creation. Malting barley (*Hordeum vulgare*) has shown an interesting capacity for interference with weeds which has been associated to its quick initial growth and-or allelopathic potential, reason why it has been quoted as a species with high possibilities of fighting weed proliferation by alternative ways than chemical control. The purpose of the present paper was to study the allelopathic potential of barley crops that are most used on ryegrass in this country. To this effect an experiment was repeated at three different times during the months of june and july of 2009 in the labs of the Department of Vegetation Protection at the Experimental Station Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC), University of Agriculture and Farming at Uruguay. The treatments were set up in randomized complete block design with four repetitions consisting in the growth of ryegrass with 12 varieties of barley (CLE 202, Dayman, Arrayán, Danuta, Carumbé, Guaviyú, Ambev 23, Ambev 31, MUSA 59531, Conchita, Quebracho y Magnific 104) and a witness of only ryegrass following the method suggested by Bertholdsson (2004). With the determination of length, and dry weight of ryegrass root and dry weight as the aerial part of ryegrass, indicators of allelopathic potential were calculated (AAP1 AAP2 AAP3 respectively). In the first experiment a reduction of the root growth of the ryegrass was of more than 30% when together with Arrayan, Carumbe and Ambev 23. In experiment 2 no significant effects were detected and in the case of experiment 3 the indicator AAP1 showed Ambev 23 as a variety significantly more allelopathic, the rest of the varieties presented an intermediate behaviour. The indicator AAP3 in experiments 2 and 3, and the indicator AAP2 in experiment 3 did not show consistent behaviour with the indicator AAP1 of the same experiment or of the previous ones. The cluster analysis with results of the 3 experiments highlighted the varieties Arrayan, Carumbe, Guaviyu and ambev 23 as allelopathic. The best indicator to estimate the allelopathic potential was AAP1 and the worst AAP3.

Key words: *Lolium multiflorum*; Allelopathic potential; Allelopatic potential activity.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ACCIARESI, A.; ASENJO, A. 2003. Efecto alelopático de *Sorghum halepense* (L.) Pers. sobre el crecimiento de la plántula y la biomasa aérea y radical de *Triticum aestivum* (L.) *Ecología Austral*. 13 (1): s.p.
2. ASGHARI, J.; TEWARI, J.P. 2007. Allelopathic potentials of eight barley cultivars on *Brassicajucea* (L) Czern. and *Setaria viridis* (L) p. Beauv. *Journal Agricultural Science Technolnology*. 9: 165-176
3. BENSCH, E.; SCHALCHLI, T.; FUENTES R.; SEEMANN P.; JOBET C. 2007. Potencial alelopático diferencial de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) chileno sobre ballica anual (*Lolium rigidum*) var. Wimmera. *IDESIA*. 25(2): 81-89.
4. BERTHOLDSSON, N.O. 2004. Variation in allelopathic activity over 100 years of barley selection and breeding. *Weed Research*. 44 (2):78-86
5. _____. 2005. Early vigour and allelopathy – two useful traits for enhanced barley and wheat competitiveness against weeds. *Weed Research*. 45: 94–102
6. BLANCO, Y. 2006. La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales*. 27 (3): 5-16.
7. _____.; HERNANDEZ, I.; URRRA, I.; LEYVA, Á. 2007. Potencial alelopático de diferentes concentraciones de extractos de girasol (*Helianthus annuus*, L.), Maíz (*Zea mays* L), Frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) y boniato (*Ipomoea batata*, L.) sobre el crecimiento y desarrollo inicial de frijol común. *Cultivos Tropicales* 28 (3): 59.
8. CABALLERO, G. 2004. Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre “*leptinotarsa decemlineata* (say)(coleoptera:chrysomelidae) y “*spodoptera exigua* (hübner)(lepidoptera:nocturnae). Tesis. Dr. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias. 119 p.

9. CESIO, M. V. 2004. Química y fisiología de esteres de azucares. Tesis Doctorado en Química. Montevideo, Uruguay. Facultad de Química. s.p.
10. CHON, S.U.; KIM, Y.M.; LEE, J.C. 2003. Herbicidal potential and quantification of causative allelochemicals from several Compositae weeds. *Weed Research*. 43: 444 – 450.
11. DE LA CRUZ, R. 1998. La alelopatía en el manejo de malezas. Turrialba, CATIE. 43 p.
12. EINHELLIG, F.; LEATHER, G. 1988. Potentials for exploring allelopathy to enlace crop production. *Journal of Chemical Ecology*. 14 (10): 1829-1845.
13. _____. 2004. Mode of allelochemical action of phenolic compounds. In: Macias, F.A.; Galindo, J.C.G.; Cutler, H.G. eds. *Allelopathy; chemistry and mode of action*. Boca Raton, CRC. pp. 217-238.
14. EVERITT, B.S. 1980. Cluster analysis. 2th. ed. London, Heineman Educational Books. s. p.
15. FAO. 2004. Manejo de malezas en países en desarrollo. Roma, 318 p. (Estudio FAO Producción y protección vegetal no. 120).
16. FERREIRA, A.; AQUILA, M. E. 2000. Alelopatía; um area emergente da ecofisiología. (en línea). Brasilia, s.e. 30 p. Consultado 8 oct. 2009. Disponible en <http://www.cnpdia.embrapa.br/rbfv/pdfs/download.php?file...pdf>
17. HAIG, T. 2008 Allelochemicals in plants. In: Zeng, R.S.; Mallik, A.U.; Shi, M.L. eds. *Allelopathy in sustainable agriculture and forestry*. Nueva York, Springer. pp.63-104.
18. JONES, E.; JESSOP, R. S.; SINDEL, B. M.; HOULT, A. 1999. Utilising crop residues to control weeds. In: Australian Weeds Conference (12^o.,1999, Devonport). Proceedings. Bishop, Boersma, Barnes. pp. 3737-376
19. LOTINA-HENNSEN, B.; KING-DIAZ, B.; AGUILAR, M.I.; HERNANDEZ TERRONES, M. G. 2006. Plant secondary metabolites. Targets and mechanisms of allelopathy. In: Reigosa, M.J; Pedrol,N.;

González, L. A. eds. Physiological process with ecological implications. Nueva York, Springer. pp. 229-265

20. MALLIK, A.U. 2008. Allelopathy research and application in sustainable agriculture and forestry. *In*: Zeng, R.S.; Mallik, A.U.; Shi, M.L. eds. Allelopathy in sustainable agriculture and forestry. Nueva York, Springer. pp.1-7
21. MEREDITH, A. 2008. Allelopathy in Rye (*Secale cereale*). Tesis Msc. Raleigh, United States. North Carolina State University. 135 p.
22. ORMEÑO-NÚÑEZ, J.; PINO-ROJAS, G. ; GARFE-VERGARA, F. 2008. Inhibición del crecimiento de chufa (*Cyperus esculentus*) y pasto bermuda (*Cynodon dactylon*) con mulch vegetal proveniente de centeno (*Secale cereale*) en vides. (en línea). Chilean Journal of Agricultural Research. 68 (3): 238-247 Consultado 27 oct. 2009 Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-58392008000300003&lng=es&nrm=iso
23. PUTNAM, A.R. 1988. Allelochemicals from plants a Herbicides. Weed Technology. 2 (2): 510-518.
24. RICE, E.1974. Allelopathy. New York, Academic Press. 353 p.
25. SAMPIETRO, D. 2003 Alelopatía; concepto, características, metodología de estudio e importancia. (en línea). San Miguel de Tucumán, s.e. s.p. Consultado 8 oct. 2009. Disponible en http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas%20artificiales/19-alelopatia.htm
26. SOUZA, A.P.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C. 2003. Efeitos alelopáticos do calopogônio em função de sua idade e da densidade de sementes da planta receptora. Planta Daninha. 21(2): 211-218
27. TREZZI, M.M.; VIDAL, R.A. 2004. Potencial de utilização de cobertura vegetal de sorgo e milho na supressão de plantas daninhas em condição de campo: II - Efeitos da cobertura morta. Planta Daninha. 22(1): 1-10.

28. WEIDENHAMER, J. 2006. Distinguishing allelopathy from resource competition: the role of density. In: Reigosa, M.J; Pedrol, N.; González, L. A. eds. Physiological process with ecological implications. Nueva York, Springer. pp 85-103
29. WU, H.; PRATLEY, J.; LEMERLE, D.; HAIG, T. 1999. Crop cultivars with allelopathic capability. Weed Research. 39 (3): 171-180.
30. _____.; _____.; _____.; _____.; AN, M. 2001. Screening methods for the evaluation of crop allelopathic potential. The Botanical Review. 67: 403-415.