

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE COBERTURAS INVERNALES SOBRE  
ESPECIES GRAMÍNEAS Y HOJAS ANCHAS

por

Carlos SEGREDO JASO

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

MONTEVIDEO

URUGUAY

2021

Tesis aprobada por:

Director: -----  
Ing. Agr. Grisel Fernández

-----  
Ing. Agr. Florencia Rodríguez

-----  
Ing. Agr. Isabel García

Fecha: 30 de diciembre de 2021

Autor: -----  
Carlos Segredo Jaso

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia por el apoyo incondicional que hizo que todo fuera posible.

A mi amigo Marcos Urrestarazú y demás personas que de una u otra forma estuvieron siempre colaborando y acompañándome.

A la Facultad de Agronomía y todo lo que ello implica que nos permitió formarnos como personas y profesionales.

A la Ing. Agr. Grisel Fernández, directora de este trabajo, por su excelente y constante disposición a lo largo de todo el trabajo.

A la Ing. Agr. Florencia Rodríguez por su guía y colaboración durante el trabajo práctico.

A la Lic. Sully Toledo por su gran orientación y calidad a la hora de la corrección de la tesis.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	3
2.1. ALELOPATÍA.....	3
2.1.1. <u>Definición</u> .....	3
2.1.2. <u>Naturaleza química</u> .....	4
2.1.3. <u>Funciones de los aleloquímicos</u> .....	5
2.1.4. <u>Tipos</u> .....	6
2.1.4.1. Terpenos.....	7
2.1.4.2. Fenoles.....	8
2.1.4.3. Alcaloides.....	10
2.1.4.4. Otros.....	12
2.1.5. <u>Liberación de aleloquímicos en el ambiente</u> .....	12
2.1.6. <u>Mecanismo de acción</u> .....	13
2.1.7. <u>Usos de la alelopatía</u> .....	15
2.2. EVIDENCIA DE ALELOPATÍA.....	16
2.3. MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA ALELOPATÍA.....	18
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	19
3.1. UBICACIÓN.....	19
3.2. DESCRIPCIÓN Y TRATAMIENTOS.....	19
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
3.3.1 <u>Modelo experimental</u> .....	20
3.4. INSTALACIÓN Y METODOLOGÍAS UTILIZADAS.....	20
3.5. DETERMINACIONES.....	22
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.....	23
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	24
4.1. GERMINACIÓN.....	24
4.1.1. <u>Germinación de <i>S.vulgare</i> (%) según el tipo y la cantidad de rastrojo</u> . 24	
4.1.2. <u>Germinación de <i>B.juncea</i> (%) según el tipo y la cantidad de rastrojo</u> .. 25	
4.2. LARGO DE RADÍCULA.....	27

4.2.1. <u>Medición de radícula de <i>S.vulgare</i> según tipo y cantidad de rastrojo...</u>	27
4.2.2. <u>Medición de radícula de <i>B. juncea</i> según tipo y cantidad de rastrojo...</u>	28
5. <u>CONCLUSIONES</u> .....	30
6. <u>RESUMEN</u> .....	31
7. <u>SUMMARY</u> .....	32
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	33
9. <u>ANEXOS</u> .....	42

## LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura No.	Página
1. Germinación de <i>S.vulgare</i> (%) según el tipo y la cantidad de rastrojo.....	31
2. Germinación de <i>B.juncea</i> según tipo y cantidad de rastrojo.....	33
3. Largo de radícula (mm) de <i>S. vulgare</i> según tipo y cantidad de rastrojo.....	35
4. Largo de radícula (mm) de <i>B.juncea</i> según tipo y cantidad de rastrojo.....	36
Foto No.	
1. Coberturas en el campo experimental previo a momento de colecta.....	21
2. Recipientes con semillas de <i>S. vulgare</i> recién salidos de la cámara de crecimiento controlado (temperatura 25°C y en oscuridad).....	22
3. Determinación del largo de radícula de <i>S. vulgare</i> en hoja milimetrada.....	23

## 1. INTRODUCCIÓN

El hecho de que la población mundial haya aumentado un 90 % en las últimas cuatro décadas ha generado una creciente demanda por alimentos trayendo consigo una intensificación de los sistemas agrícolas y originando lo que se conoce como “agricultura moderna”.

En Uruguay la fuerte expansión agrícola se vio favorecida por varios factores, principalmente por los altos precios de la soja. Tal es así que entre los años 2000 y 2008 el VBP (Valor Bruto de Producción) agrario tuvo un aumento del 190 % en dólares corrientes y la producción de granos un 351 %.

Dada la topografía y considerando que la erosión es uno de los principales factores de pérdida de suelo, eran más que necesarias la adopción del cero laboreo y la siembra directa. Estas tecnologías y el uso indiscriminado de agroquímicos han cambiado la composición de las comunidades de malezas y sus respectivas resistencias.

Recientes relevamientos sobre el estado de situación de malezas en el Uruguay señalan fuertes incrementos de varias especies con resistencia, entre las que se destacan el raigrás (*Lolium multiflorum*) como invernada y carnícera (*Conyza bonariensis*) y yuyos colorados (*Amaranthus sp.*) como estivales (MGAP. DIEA, 2018).

A nivel mundial la competencia de malezas es uno de los principales factores que reducen el rendimiento de los cultivos y los ingresos de los agricultores. A pesar de la disponibilidad de soluciones (tecnológicas como los herbicidas selectivos y los cultivos genéticamente modificados con resistencias a herbicidas), las pérdidas en rendimiento no parecen disminuir significativamente con el pasar del tiempo.

La utilización de estos productos puede representar importantes costos y traer varios inconvenientes como ser: la ventana de aplicación, el alto riesgo a la creación de resistencia y/o posibles riesgos ambientales asociados.

El limitado éxito de los herbicidas se puede explicar debido a la excesiva simplificación que se suele hacer cuando se enfrenta el problema. Se ha puesto demasiado énfasis en el control de malezas mediante los herbicidas sintéticos viéndolos como “la única solución”.

Por estos motivos es fundamental diseñar una estrategia global utilizando diferentes herramientas como métodos preventivos, mecánicos, biológicos y todos estos en complementación a los agroquímicos para así lograr un manejo integral del problema. El objetivo es obtener un buen resultado económico en una agricultura sustentable a largo plazo.

La utilización de cultivos con capacidad de suprimir el crecimiento de malezas ha recibido particular atención en los últimos tiempos, por este motivo es que se propuso estudiar los distintos cultivos de cobertura inicialmente propuestos. Estos cultivos de servicio o cobertura cubren el suelo evitando la erosión, retienen el agua en el perfil del suelo y recuperan materia orgánica. A su vez han demostrado importantes beneficios en el manejo de los enmalezamientos. Muchas de las especies recomendadas para tales fines también presentan potencial alelopático redundando en efectivas disminuciones del crecimiento de malezas. Los efectos supresores asociados a alelopatía en estos cultivos han sido comprobados tanto durante las etapas de su crecimiento activo como también durante la descomposición de sus rastrojos.

En este contexto es que el presente trabajo tuvo por objetivo general determinar el potencial alelopático de distintas especies, *Avena sativa*, *Avena strigosa*, *Triticosecale*, *Secale cereale* y una mezcla de leguminosas sobre dos especies indicadoras *Brassica juncea* y *Sorghum vulgare*. Las primeras son coberturas invernales como: avena negra, avena blanca, triticale, centeno y mezcla de leguminosas y las segundas son especies indicadoras de hoja ancha y gramíneas como: colza (*Brassica juncea*) y sorgo (*Sorghum vulgare*) respectivamente. A este objetivo se le suma otro aún más específico que consta de cuantificar el efecto alelopático para dos niveles de rastrojo, 2000 y 4000 kgs de M.S/ha. Para intentar el alcance de dichos objetivos se mide longitudinalmente el crecimiento radicular como parámetro de crecimiento recomendado para la evaluación de efectos alelopáticos.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ALELOPATÍA

#### 2.1.1. Definición

Según la International Allelopathy Society (Chang-Hung, 2006) alelopatía se considera a *"cualquier proceso que involucre metabolitos secundarios producidos por plantas, algas, bacterias y hongos que influyen en el crecimiento y desarrollo de los sistemas biológicos y agrícolas"*.

La idea de que las plantas afectan a las plantas vecinas por la liberación de químicos al ambiente es conocida desde el 370 A.C. (Willis, citado por Mallik, 2008a), sin embargo fue el fisiólogo austriaco Hans Molisch en 1937 quien le dio un nombre formal, alelopatía. Dicho término proviene del griego *allelon* que significa "uno al otro" y *pathos* que significa "sufrir un efecto injurioso".

En un sentido muy amplio Rice, citado por Ferreira y Aquila (2000) definió la alelopatía como: *"cualquier efecto directo o indirecto perjudicial o benéfico que una planta, incluido microorganismos ejerce sobre otra por la producción de compuestos químicos liberados en el ambiente"*.

Hadacek, citado por Lorenzo y González (2010) plantea que la mayoría de los compuestos liberados por las plantas son considerados metabolitos secundarios y son el resultado de las rutas metabólicas primarias. Inderjit y Duke (2003) consideran que dependiendo de su acción fitotóxica, concentración bioactiva y persistencia así como el entorno en que son liberados, pueden actuar como compuestos alelopáticos.

Por su parte Wu et al. (1999) plantean que la mayoría de los casos identificados como alelopatía se asocian a efectos inhibitorios causados por una planta sobre otra. Muchos ecologistas están a favor de incluir únicamente los efectos negativos de la alelopatía. Así Lambers et al., citados por Olofsdotter et al. (2002) definen alelopatía como la supresión del crecimiento de una especie vegetal por otra debido a la liberación de compuestos tóxicos.

Por otra parte Putnam (1988), señala que existen al menos dos mecanismos responsables de la "interferencia entre plantas", la alelopatía y la competencia. Este último afecta negativamente el crecimiento de plantas vecinas explicado por la utilización compartida de los recursos limitantes como son, el espacio, la luz, los nutrientes y el agua.

Si bien estos conceptos son diferentes entre sí, desde el punto de vista ecofisiológico sus efectos actúan conjuntamente. Para evitar confusiones se utiliza el término interferencia en relación al efecto total de una planta sobre otra, es decir, a la

sumatoria de efectos causados por los fenómenos de competencia y alelopatía (Weston, 2005).

Es por esto que los mecanismos de interferencia, alelopatía y competencia son prácticamente imposibles de separar en condiciones de campo.

Para Einhellig y Leather (1988) es extremadamente importante disipar la ilusión de que las situaciones de inhibición alelopática son causadas por un solo compuesto. En general la interferencia surge de la acción combinada de varios aleloquímicos y este impacto también está influenciado por otras tensiones ambientales.

### 2.1.2. Naturaleza química

Los aleloquímicos son metabolitos secundarios no nutricionales producidos por organismos vivos, es decir plantas que tienen efectos estimulantes o supresores sobre el crecimiento, la salud, el comportamiento o la biología de la población de organismos vecinos como plantas, insectos u otros microorganismos (Haig, 2008).

Dichos compuestos derivan de las diferentes vías metabólicas que en ocasiones son compuestos de desecho y no cumplen funciones estrictamente vitales (Ringuelet y Viña, 2013a). A su vez estos son propensos a la oxidación química y degradación microbiana en el medio ambiente (Inderjit et al., 2006).

Tharayil (2009) plantea que la baja concentración de los metabolitos secundarios en condiciones de campo le quita relevancia ecológica a la alelopatía ya que no son capaces de provocar una respuesta fitotóxica. En esta misma línea Putnam (1985) plantea que la actividad biológica de este producto depende más de su concentración y movilidad que de su composición química.

Por su parte Einhellig (1996) destaca que la actividad alelopática se debe a menudo a la acción conjunta de una mezcla de productos químicos más que a la acción de un único aleloquímico.

Si bien en condiciones de campo las concentraciones de compuestos individuales suelen estar muy por debajo de sus niveles inhibitorios, las mezclas de aleloquímicos y otros compuestos orgánicos pueden causar efectos inhibidores alelopáticos (Blum, 1996).

Un pequeño, pero creciente cuerpo de evidencia sugiere que las plantas pueden ser capaces de reconocer y responder a las plantas vecinas de una manera específica de la especie (Broz et al., 2010). En esta misma línea Seigler, citado por Gatti et al. (2010) plantea que los aleloquímicos pueden ser selectivos en sus acciones así como las plantas pueden ser selectivas en sus respuestas. Por esta razón, es difícil determinar la acción de estos compuestos.

### 2.1.3. Funciones y regulación de los aleloquímicos

Las plantas a pesar de ser autótrofas son inmóviles. Por este motivo no pueden escapar, y la síntesis de aleloquímicos se torna el principal mecanismo de defensa contra el ataque de sus enemigos. De acuerdo con Bartwal et al. (2013) los metabolitos secundarios realizan una amplia gama de funciones bajo situaciones de estrés biótico y abiótico como ser, antimicrobianas, fotoprotectores, estabilizadores de la estructura, entre otras. Así la síntesis de metabolitos secundarios le confiere a ciertas especies una ventaja selectiva, mejor competitividad en su hábitat y por ende una mayor capacidad evolutiva dentro de la selección natural (Pedrol et al., 2006).

A su vez la cantidad y calidad de la producción aleloquímica pueden variar significativamente durante el desarrollo de la planta. A modo de ejemplo la producción de diurrina u otros fenólicos relacionados con *Sorghum spp.* son superiores durante las primeras etapas de desarrollo de la planta, esto le confiere a dicha especie una ventaja competitiva durante la etapa de establecimiento (Weston et al., citados por Inderjit et al., 2006).

Las condiciones ambientales afectan el grado de actividad de los compuestos alelopáticos y acentúan su acción, ya sea por factores de estrés bióticos y/o abióticos (Macías et al., 2004).

Dentro de los factores bióticos Karban (2007) sugiere que los daños causados por herbívoros inducen a la respuesta química de las plantas como defensa que a su vez pueden causar efectos negativos sobre la germinación de otras especies no afectadas por estos. Por su parte Einhellig (1996) agrega que la alelopatía está fuertemente asociada con otros factores del ambiente como son los insectos y las enfermedades. A modo de ejemplo Hadacek, citado por Bartwal et al. (2013) sugiere que la producción de color y aroma por metabolitos secundarios puede atraer o repeler insectos y herbívoros, mientras que las toxinas pueden participar en las interacciones alelopáticas planta-planta, protegiendo así a estas del estrés biótico.

Un ejemplo de esto es la liberación de hidrogenocyanida, un gas venenoso bien conocido y liberado por glucósidos cianogénicos que disuade a insectos y herbívoros. Se cree que estos compuestos son los responsables de la resistencia a las plagas gracias a su descomposición para producir moléculas responsables del olor y el sabor de verduras como el rábano y el brócoli. Estos compuestos se encuentran principalmente en las plantas de la familia de las Brassicaceae (Bartwal et al., 2013).

En relación a los factores abióticos, Trenbath, citado por Weidenhamer (2006) observó que los efectos alelopáticos podrían ser acentuados o revertidos dependiendo de la necesidad de competir por los recursos naturales como son los nutrientes, el agua y la luz. En esta misma línea, Einhellig y Leather (1988), Williamson et al., citados por Einhellig (1996) sugieren que el estrés abiótico por limitante nutricional del ambiente

puede aumentar la producción vegetal de aleloquímicos fitotóxicos. Así Humphry et al. (2001) concluyen que ante la escasez de recursos, una planta puede inhibir alelopáticamente a otra por la competencia entre recursos.

Dentro de los factores abióticos se encuentra el caso de las xantofilas y varios metabolitos secundarios como flavonoides, antocianinas, derivados del ácido cinámico entre otros con su función fotoprotectora. Estos poseen dobles enlaces conjugados y una configuración electrónica que les permite la absorbancia en el espectro de luz visible y UV y facilita las transferencias de electrones y energía (Cockell y Knowland, 1999).

Así las xantofilas que contienen numerosos dobles enlaces conjugados en una cadena larga operan en el ciclo de la xantofila realizando la disipación del exceso de energía luminosa como calor inocuo (Demmig-Adams, 2003).

Por todo lo antes dicho se puede concluir que la supervivencia de especies puede verse afectada por la aleopatía lo que permite que las especies pioneras se establezcan gracias a la liberación de aleloquímicos (Reigosa et al., 1999). En el mismo sentido Whittaker, citado por Barnes y Putnam (1983) manifiesta que los efectos alelopáticos parecen ser especialmente significativos en comunidades naturales con un fuerte predominio de una sola especie.

#### 2.1.4. Tipos

Si bien se han realizado numerosos estudios para aislar e identificar la naturaleza química y las estructuras de los metabolitos secundarios, quizás el mejor término para describirlos sea "*diversidad*" (Putnam, 1988). Según Hadacek, citado por Bartwal et al. (2013) se ha reportado la existencia de más de 100.000 metabolitos secundarios diferentes. Estos van desde un simple hidrocarburo como el etileno hasta compuestos más complejos como los policíclicos, ambos con elevados pesos moleculares (Putnam, 1988).

Esta gran diversidad de tipos químicos e interacciones mostradas por los metabolitos secundarios está sujeta a la impresionante multiplicidad de funciones que estos pueden cumplir, desde la toxicidad hasta blindaje de luz ultravioleta y/o transducción de señales (Yang et al., Grassmann et al., Hadacek, Osbourn et al., Vasconsuelo y Boland, citados por Edreva et al., 2008).

Dado este alto número de compuestos y un reducido conocimiento es que se proponen distintas formas de agruparlos. Rice, citado por Ferreira y Aquila (2000) los agrupa en 14 categorías conforme su similitud química e indica sus respectivas vías de síntesis. Por su parte Whittaker y Feeny (1971) los distinguen en cinco grupos: ácido cinámico, flavonoides, terpenoides, esteroides y alcaloides. Así Michalak, citado por Bartwal et al. (2013) concluye que si bien este gran número de metabolitos secundarios pueden pertenecer a un gran número de clases, estos generalmente pertenecen a uno de los tres grandes grupos como son los terpenos, fenoles o alcaloides.

1. Terpenos (terpenoides o isoprenoides)
2. Fenoles: flavonoides, taninos, ligninas, derivados del ácido benzoico, derivados del ácido cinámico, quinonas y cumarinas.
3. Alcaloides, metabolitos secundarios que contienen nitrógeno como: la cocaína, la cafeína y la morfina; glucósidos cianogénicos y glucosinolatos, etc.

#### 2.1.4.1 Terpenos

Los terpenos son producidos en casi todas las plantas, representan el mayor grupo de metabolitos secundarios y se han aislados e identificados cerca de 10.000 de estos (Obst, 1998).

Todos ellos provienen del mismo precursor biosintético, el isopentenil y tienen como unidad estructural el isopreno, una molécula de cadena abierta, ramificada e insaturada (Ringuelet y Viña, 2013a).

Su esqueleto está formado por 5 carbonos, es liposoluble, muy volátil y se caracteriza por su alta reactividad e interacción en la tropósfera durante períodos diurnos y nocturnos. A su vez Muller, citado por Reigosa et al. (1999) además de generalizarlos como compuestos volátiles, agrega que son muy frecuentes en zonas áridas.

De acuerdo con Michalak, citado por Bartwal et al. (2013) los terpenos se clasifican según la cantidad de unidades de isopreno que contengan en su estructura:

- 2 unidades de isopreno (terpenos C10) se denominan monoterpenos
- 3 unidades de isopreno (terpenos C15) se denominan sesquiterpenos
- 4 unidades de isopreno (terpenos C20) se denominan diterpenos
- 6 unidades de isopreno (terpenos C30) se denominan triterpenos
- 8 unidades de isopreno (terpenos C40) se denominan tetraterpenos
- 8 unidades de isopreno (terpenos > C40) se denominan politerpenoides

El isopreno y los monoterpenos son los más abundantes compuestos orgánicos volátiles biogénicos (COVB) emitidos naturalmente por la vegetación a la atmósfera (Ringuelet y Viña, 2013a).

Estos hidrocarburos cumplen varias funciones en la planta, actúan como reguladores del crecimiento, son compuestos atractivos para los polinizadores y actúan en la defensa de la planta contra herbívoros y patógenos (Bartwal et al., 2013).

Según Inderjit et al. (2006) existe un tipo de monoterpenos, las nepetolactonas actúan como potentes inhibidores del crecimiento y la germinación de las plántulas. Así lo demuestran Eom et al. (2006) en bioensayos cerrados con la menta (*Nepeta / faassenii*),

diciendo que es una cubierta vegetal ornamental que posee numerosas glándulas secretoras en las superficies abaxiales de sus hojas, y que la mezcla volátil liberada por esta planta en altas concentraciones producen los efectos antes mencionados.

Por su parte Turlings et al. (1995) citan a otros tipos de monoterpenos cumpliendo otro tipo de funciones. Así señala a los piretroides que se producen en las hojas y las flores de las especies de *Chrysanthemum* con fuertes respuestas insecticidas (neurotoxinas) sobre insectos como escarabajos, avispas, polillas, abejas, etc. Sin embargo a pesar de ser agentes importantes de toxicidad para los insectos, éstos también son un ingrediente popular en insecticidas comerciales debido a la baja persistencia en el medio ambiente y baja toxicidad para los mamíferos.

Siguiendo con otras funciones, Picman (1986) informa que el papel que poseen los costunólidos, un tipo de Sesquiterpenos, en la defensa de las plantas. Estos son compuestos familiares caracterizados por un anillo de lactona de cinco miembros, osea un éster cíclico, que poseen una fuerte repelencia de alimentación para muchos insectos herbívoros actuando como agentes anti herbívoros.

Así Loreto et al. (1998) descubrieron que los monoterpenos emitidos por el roble (*Quercus ilex*) desempeñan un papel fundamental en la termotolerancia de esta especie y otras que almacenan y/o producen dichos metabolitos.

Por su parte Taiz y Zeiger, citados por Bartwal et al. (2013) señalan a la producción de isopreno como fundamental para la protección del fotosistema II frente a los posibles efectos dañinos causados por las ROS (especies reactivas frente al oxígeno).

#### 2.1.4.2. Fenoles

Los fenoles son compuestos orgánicos cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol compuesto por un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo. Estos son un grupo muy diverso y abundante de metabolitos secundarios dado que en la actualidad se han logrado identificar cerca de 10.000 compuestos fenólicos diferentes y la mayoría de ellos de origen vegetal (Viña, 2013). Muller, citado por Reigosa et al. (1999) agrega que dichos compuestos son muy comunes en las zonas templadas frías.

Debido a su composición química estos compuestos poseen numerosas características generales, así múltiples autores citados por Reigosa et al. (1999) destacan como de gran importancia su solubilidad en agua mientras que Moran et al. (1997) destacan su notoria capacidad de quelación probablemente relacionada con el alto carácter nucleofílico de los anillos aromáticos.

En general son sintetizados por una de las dos vías metabólicas, la ruta del ácido shikímico o la ruta del ácido malónico, o por ambas como en el caso de los flavonoides. Su síntesis ocurre a partir de la acción de la enzima L-PAL sobre el ácido cinámico en el

metabolismo primario, para dar origen al metabolito secundario fenilpropanoide (Bartwal et al., 2013). Dentro de esta gran familia de compuestos, además de los fenoles simples como los fenilpropanoides, también se encuentran los flavonoides, estilbenos, taninos, lignanos, lignina entre otros (Heldt et al., 2011).

Su gran diversidad estructural le confiere a los fenoles una amplia gama de funciones importantes en la planta como ser, antibióticos, pesticidas naturales, sustancias señalizadoras de simbiosis con rizobios, agentes atrayentes para polinizadores, agentes protectores contra la luz ultravioleta, materiales aislantes para hacer que las paredes celulares sean impermeables a los gases y al agua, actuar como material de estructura para la estabilidad de la planta y además su potente acción antioxidante. Por esta última razón es que se considera que los nutrientes que contienen flavonoides como, el té verde, la salsa de soja y el vino tinto se han considerado beneficiosos para la salud humana ya que son protectores contra las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Heldt et al., 2011).

Sakihama et al. (2002) explican como los compuestos fenólicos simples, tanto flavonoles como fenilpropanoides, cumplen la función antioxidante en las plantas. Estos compuestos tienen la capacidad de donar electrones a la enzima encargada de catalizar dicha oxidación, la peroxidasa de Guayacol, y así lograr la desintoxicación de altas cantidades de peróxido de hidrógeno producidas bajo condiciones de estrés. Dicha actividad de los fitofenoles depende de su potencial reductor de metales, comportamiento de quelación, pH y solubilidad. Cabe destacar que Li y Trush (1994) señalan que esta función de los fenoles ocurre generalmente en respuesta a la ocurrencia de un daño tisular. Así Winke - Shirley (2002) asegura que el concepto antioxidante de los fenoles no es nuevo debido la gran cantidad de información que evidencia que las raíces de muchas plantas expuestas a metales pesados exudan altos niveles de fenólicos.

Edreva et al. (2008) señalan la existencia de actividad antimicrobiana y de defensa contra patógenos como hongos, virus y bacterias. Esto ocurre mediante la interacción de los grupos quinoides que poseen ciertos fenoles y los sitios activos de las proteínas microbianas.

Otras dos funciones que se le atribuyen a los fenoles, y particularmente a los flavonoides son las de fitoalexinas y de defensa contra herbívoros. Un ejemplo de fitoalexina es la rotenona, un inhibidor de la cadena respiratoria que se acumula en las hojas de una leguminosa tropical. Esta isoflavona se encuentra en la alfalfa (*Medicago sativa*) y los aborígenes en América del Sur solían matar peces arrojando sus hojas al agua (Heldt et al., 2011). Por su parte Fürstenberg - Hägg et al. (2013) asocian a los flavonoides y taninos con la defensa de las plantas contra la acción de los hervíboros. Estos observaron un aumento del contenido de dichos fenoles en álamos y robles en respuesta a la alimentación y las heridas.

Según Yamasaki et al. (1995) la acumulación de compuestos fenólicos en las plantas puede ser inducida por estreses bióticos y abióticos como ser la radiación UV y la

alta intensidad de luz. Dado que las flavonas y los flavonoles son pigmentos que poseen su máximo de absorción en la región ultravioleta, estos protegen a las plantas del efecto perjudicial de la luz ultravioleta (Heldt et al., 2011).

Por su parte Dayan et al. (2009) señalan el famoso ejemplo de la Sorigoleone, una benzoquinona lipídica que exudan las raíces de *Sorghum bicolor* y que suprime el crecimiento de una gran cantidad de especies de plantas mediante la inhibición de varios procesos fisiológicos y enzimas.

Yoneyama et al. (1996), Duke et al. (2002) señalan que el grandinol es otro compuesto fenólico que ejerce acción fitoquímica sobre otras plantas y que está relacionado con el fluoroglucinol. Este inhibe la germinación, la fotosíntesis, la transpiración y la apertura estomática de plantas vecinas.

Por su parte Harper y Balke (1981) señalan como dos compuestos fenólicos afectan la absorción de potasio según el pH del suelo y la concentración en la que se encuentran dichos compuestos. Así tanto el ácido salicílico como el ácido ferúlico inhibieron en mayor o menor medida la absorción del potasio en *Avena sativa* L. cv. Goodfield según las condiciones antes mencionadas. Einhellig (1996), Inderjit et al. (2006) señalan al ácido benzoico como un producto natural que también inhibe la absorción de nutrientes o causa alteraciones en la membrana celular.

Según Wong et al., citados por Scognamiglio et al. (2015) los aleloquímicos poseen diferente actividad fitotóxica según la estructura química de los compuestos. A modo de ejemplo, cuando se sustituye un anillo aromático por otro, el potencial fitotóxico puede cambiar sustancialmente. Así, dentro de los compuestos fenólicos el ácido cis-cinámico fue diez veces más activo que el ácido trans-cinámico en la inhibición del crecimiento radicular de *Arabidopsis thaliana*. En esta misma línea Rice, citado por Scognamiglio et al. (2015) señala que el efecto que mayor se observa dentro de dichos compuestos es la inhibición del crecimiento de la raíz.

#### 2.1.4.3. Alcaloides

Los alcaloides son uno de los grupos de metabolitos secundarios más numerosos con cerca de 12.000 compuestos conocidos aunque sólo 600 de ellos han sido estudiados por sus propiedades químicas (Wink, 2000).

Se encuentran ampliamente distribuidos entre las familias Fabaceae, Apocynaceae, Asteraceae y Boraginaceae, y normalmente cumplen un rol como agente defensivo de la planta contra hongos, virus, herbívoros, microorganismos y plantas competidoras. Así algunas especies de plantas son especialmente insecticidas debido a la variedad de alcaloides defensivos que producen, como ser la estricnina, la efedrina, la piperina, la nicotina y la gramina (Haig, 2008).

Estructuralmente Henning (2013a) señala que los alcaloides contienen siempre uno o varios átomos de nitrógeno en su molécula. Así según su estructura molecular y ruta biosintética, dicho autor los clasifica en tres grupos, verdaderos, protoalcaloides y pseudoalcaloides.

Los verdaderos siempre tienen un nitrógeno intracíclico y se forman a partir de un aminoácido. Normalmente se los encuentra formando sales con distintos ácidos como ser, ácido acético, oxálico, láctico, málico, tartárico y/o cítrico.

Bartwal et al. (2013) indican que los compuestos que contienen nitrógeno básico en plantas incluyen potentes inhibidores de varios compuestos oxidantes tóxicos, entre ellos cita a los alcaloides del tipo indol como ser la estricnina y la brucina.

En cuanto a los protoalcaloides se los considera aminas simples y se los diferencia de los verdaderos por poseer el nitrógeno en una cadena lateral de la molécula, o sea extracíclico.

Haig (2008) cita el trabajo del grupo Lovett donde se investiga la autodefensa en la cebada (*Hordeum spp.*). Así se comprueba mediante ensayo biológico que plantas de cebada liberan este tipo de alcaloide desde sus raíces, hordenina, y que este es fitotóxico contra la mostaza blanca (*Sinapsis alba*).

Por último los pseudoalcaloides que son conocidos como alcaloides terpénicos o isoprenoides ya que poseen todas las características de los alcaloides pero no se forman a partir de aminoácidos.

A pesar de la clasificación antes mencionada cabe destacar que existen varias clasificaciones de distintos autores debido a la dificultad que presentan los alcaloides para definirse y diferenciarse de otros metabolitos nitrogenados. De todas formas la mayoría de los autores coinciden en el gran potencial alelopático que poseen los ácidos hidroxámicos y sus derivados (Regnault et al., citados por Ringuelet y Viña, 2013a).

Los ácidos hidroxámicos están presentes en varias gramíneas como el centeno, maíz y sorgo y derivan de la benzoxacinona, cuando estos son liberados al suelo se degradan química y microbianamente para transformarse en benzoxazolinonas (Regnault et al., citados por Ringuelet y Viña, 2013a). Estas últimas poseen un potencial alelopático significativo y además importantes efectos fitotóxicos sobre ciertas malezas que pueden ser una herramienta útil en un eventual sistema de manejo de las mismas (Friebe et al. 1998). Haig (2008) señala que los benzoxazinoides liberados por el rastrojo de centeno, y más específicamente el 2,4 dihidroxi benzoxacinona (DIBOA), son utilizados como una estrategia de control de malezas como los géneros *Digitaria* y *Echinochloa*.

Múltiples autores señalan la existencia de cultivares de diferentes especies que pueden exudar benzoxazinoides desde sus raíces al suelo. A modo de ejemplo, Wu et al. (2001a) logran diferenciar el potencial alelopático de distintos cultivares de trigo según la

cantidad de DIMBOA que estos pueden producir. Este y otros trabajos más han sido de gran importancia para bajar dosis y aplicaciones de herbicida en el control de malezas (Wu et al., 2001a).

En esta misma línea Niemeyer (1988) señala que las benzoxazinonas y sus productos de degradación como ser el DIBOA, BOA y otros, son aleloquímicos naturales que están presentes en el trigo, el maíz, el centeno y otros miembros de las gramíneas. Por su parte Friebe et al. (1998) agregan que estos están involucrados en la resistencia a enfermedades de las plantas debido a su actividad inhibitoria sobre algunos hongos y bacterias, y Argandoña et al. (1983) a su vez le atribuyen a varias gramíneas el poder anti alimentante, tóxico y disuasivo contra áfidos.

#### 2.1.4.4. Otros

Según Bajguz y Tretyn (2003) los brasinoesteroides son un grupo relativamente nuevo de hormonas vegetales que representan una nueva sexta clase de hormonas vegetales además de las ya conocidas auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y etileno. Estructuralmente son poli hidroxisteroides y cumplen importantes funciones como promotores del crecimiento. Por su parte Sasse, citado por Bajguz y Tretyn (2003) agrega que además de su importante rol en el desarrollo, estos también tienen la capacidad de proteger a las plantas de estreses ambientales como ser, sequía, temperaturas extremas, metales pesados, salinidad y lesiones causadas por herbicidas.

Dada la dificultad de clasificar algunos metabolitos secundarios, el contexto de la alelopatía y el significado generalizado del término “compuestos fenólicos”, Einhellig, citado por Haig (2008) considera que algunos de estos como los flavonoides o los glucosinolatos se pueden clasificar como “otros compuestos”.

Los glucosinolatos (GSL's) están compuestos estructuralmente por un azúcar, un grupo sulfato y una parte no glucídica variable que generalmente son radicales alifáticos, derivados aromáticos o indólicos. Estos compuestos están ampliamente distribuidos dentro de la familia de las Brassicáceas, están asociados a varios efectos alelopáticos y son los responsables de olores fuertes, irritantes y sabores picantes característicos de especies como mostaza, rábano, berro, etc. Según la hidrólisis que se produzca debido a las condiciones y tipo de enzima actuante, el producto reactivo, volátil y de fuerte olor que se va a formar y síntomas a provocar. Así estos compuestos azufrados están asociados a importantes funciones en las plantas como mecanismos de defensa contra herbívoros, agentes antibacterianos, repelentes, toxinas vegetales, protección contra parásitos entre otras (Henning y Yordaz, 2013b).

#### 2.1.5. Liberación de aleloquímicos en el ambiente

Los compuestos químicos con potencial alelopático están presentes en forma simple o conjugada en prácticamente todas las plantas y en muchos tejidos, incluidas las

hojas, flores, frutos, brotes, semillas, tallos y raíces (Putnam, 1988). A su vez Gatti et al., citados por Scognamiglio et al. (2015) agregan además que los aleloquímicos se producen o almacenan en casi todos los órganos y se pueden encontrar en diferentes concentraciones. Finalmente Friedman, citado por Scognamiglio et al. (2015) concluye que la cantidad y vía de emisión varían según la especie.

Bajo ciertas condiciones estos compuestos pueden ser liberados al medio ambiente, tanto a la atmósfera como a la rizosfera, en cantidades y con persistencia suficiente como para afectar a la planta vecina o sucesional (Putnam, 1988).

Estos pueden liberarse al medio ambiente a través de una variedad de mecanismos: volatilización de las hojas, exudación de las raíces y lixiviación de las hojas caídas y desechos de plantas (Putnam, 1985).

Cuando un aleloquímico se libera desde una planta al ambiente, este probablemente tenga que sufrir alguna alteración metabólica o ambiental en su estructura para que asuma actividad biológica. Por el contrario, algunos compuestos ya bioactivos y liberados desde una planta pueden inactivarse por posteriores transformaciones químicas en el aire, el agua o el suelo (Haig, 2008).

Este último factor juega un papel muy importante principalmente por dos motivos, uno porque es la matriz a través de la cual se adsorben y pasan los aleloquímicos potenciales y otro porque es el medio en el cual se transforma una de las principales vías de liberación, los exudados de raíces en la rizósfera. Las concentraciones aleloquímicas disponibles para las plantas vecinas se ven afectadas significativamente por la degradación biótica y abiótica que se produce en el medio ambiente del suelo (Ohno, 2001). Además, el pH, la humedad y el contenido de nutrientes afectan significativamente a dichas concentraciones (Kruse et al., 2000). Es por esta razón que la rotación de cultivos se utiliza en la agricultura, para evitar la autotoxicidad.

Los compuestos volátiles tales como terpenos, etileno y otras sustancias pueden liberarse fácilmente desde las hojas u otras partes de la planta que pueden afectar directamente el crecimiento y desarrollo de las plantas vecinas. A su vez éstos también pueden lavarse con rocío o lluvia y acumularse en el suelo, donde pueden permanecer por largos períodos. Además tal como citan Reigosa et al. (1999), “*Existen distintos tipos de rastros que también son capaces de liberar aleloquímicos volátiles*”.

#### 2.1.6. Mecanismo de acción

Si bien existe una amplia gama de aleloquímicos con estructuras aparentemente desconectadas y modos de acción muy diferentes, no muchos de estos se entienden completamente. Los más de 30 modos de acción actualmente conocidos y asociados con los herbicidas sintéticos, pueden ser bastante divergentes a los encontrados en la naturaleza (Haig, 2008).

Independientemente de la terminología utilizada, los aleloquímicos se clasifican en dos según su modo de acción. Lovett y Ryuntyu (1992) los clasifican en primarios y secundarios mientras que Rizvi et al. (1992) en directos e indirectos.

El modo de acción directo o primario se produce cuando el aleloquímico aislado o una mezcla de éstos se une a las membranas del receptor de la planta o entra en las células e influye directamente en su metabolismo. Este modo de acción puede afectar diversos procesos fisiológicos como la interrupción de la permeabilidad de la membrana, la absorción de iones, la inhibición del transporte de electrones en la fotosíntesis y la cadena respiratoria, alteraciones de actividades enzimáticas, la inhibición de la mitosis, entre otras (Cruz-Ortega et al., citados por Macías et al., 2004).

Dado que la mayoría de los estudios de efectos primarios se han centrado en el crecimiento temprano de las plantas, es de suma importancia contemplar que es un momento de alta actividad metabólica pero de gran susceptibilidad al estrés ambiental (Lovett y Ryuntyu, 1992).

El modo de acción indirecto o secundario incluye los efectos ocasionados por la alteración de propiedades del suelo, del estado nutricional y en la actividad de poblaciones de organismos benéficos. Así Tharayil et al., citados por Scognamiglio et al. (2015) desde el punto de vista nutricional de las plantas, muestran como los aleloquímicos influyen en las especies vecinas modificando las interacciones bióticas y abióticas, la absorción de nutrientes y su biodisponibilidad. En cuanto a los microorganismos del suelo, Castaldi et al., citados por Scognamiglio et al. (2015) concluyen que éstos pueden estar afectados positiva o negativamente por los aleloquímicos en el suelo.

La investigación sobre el modo de acción ha provocado desafíos similares para los investigadores que trabajan con productos naturales o pesticidas sintéticos. La mayor dificultad está en separar los efectos secundarios de los primarios. Si bien ambos se pueden medir en sistemas aislados, casi siempre queda sin responder la pregunta crítica sobre si la sustancia con el efecto verificado se encuentra en el medio natural en las concentraciones necesarias para que se registre el mismo efecto (Putnam, 1985).

Más allá de los posibles efectos alelopáticos directos e indirectos de una planta sobre otra, existe un creciente reconocimiento de que la alelopatía puede afectar los procesos a nivel de la comunidad, como la sucesión, el ciclo del nitrógeno y la dinámica de la comunidad.

Para determinar la relevancia de los compuestos secundarios en las condiciones naturales, deben determinarse todos los efectos de los aleloquímicos en la vegetación, incluidos los indirectos. Además, estos efectos indirectos podrían ser más importantes que los directos en la dinámica de la población de plantas (Inderjit y Weiner, 2001).

### 2.1.7. Usos de la alelopatía

Desde el comienzo de la agricultura el hombre manipuló las plantas y su ecosistema a su favor con el fin de aumentar el rendimiento y la calidad de los cultivos. Así mediante la selección, hibridación, distintas prácticas culturales, el control de enfermedades y malezas, el riego, la rotación y el manejo de la fertilidad del suelo es que se fueron logrando los objetivos deseados. Sin embargo no fue hasta la segunda mitad del siglo XX que se logró un drástico aumento en los rendimientos de los cultivos seleccionados gracias a la denominada “revolución verde”. Si bien esta nueva forma de hacer una “agricultura industrial” mediante el uso de semillas de variedades de alto rendimiento, riego y una gran variedad de agroquímicos cumple con el objetivo de alimentar a la humanidad, este modelo no parece ser sustentable en el tiempo debido a los terribles costos ambientales y de rentabilidad del mismo (Allison y Hobbs, citados por Mallik, 2008c).

Las prácticas modernas de manejo de malezas dependen significativamente del uso de herbicidas sintéticos, y si bien esta estrategia logra un control relativamente exitoso, el hecho de utilizar una gran cantidad de principios activos pertenecientes a una pocas clases químicas, le permite a ciertas especies de malezas el desarrollo de resistencia a algunos de estos compuestos. En algunos casos dicha resistencia a un herbicida específico ocurrió en tan solo dos o tres años y a su vez le permitió crear una resistencia cruzada a otras clases de químicos, como ser los inhibidores de la ALS (acetolactasa sintetasa). Esto subraya la necesidad constante de generar nuevas fórmulas químicas y nuevos sitios objetivo con el fin de evitar la resistencia de las malezas (Dayan y Duke, 2006).

La búsqueda de un manejo sustentable de las malezas junto con el conocimiento de las propiedades alelopáticas de ciertos compuestos liberados por algunas especies podrían ser utilizados para la obtención de cultivares tolerantes a sustancias alelopáticas, programar las rotaciones agrícolas o directamente para la obtención de herbicidas naturales con el objetivo de aumentar el rendimiento de los cultivos (Arango, citado por Ringuelet y Viña, 2013a).

Según Arango, citado por Ringuelet y Viña (2013a) las sustancias liberadas por las malezas o por rastrojos de cultivos precedentes pueden ser identificadas y extraídas de manera tal que sus principios activos fitotóxicos pueden ser utilizados por las industrias agroquímicas para formular herbicidas directamente a partir de ellos y de esta manera sustituir los de origen sintético con el fin de reducir el impacto ambiental. Así Rizvi et al., citados por Zamorano (2006) señalan que las características más ventajosas que poseen los herbicidas de origen natural son la facilidad para degradarse, la seguridad de utilización y la limpieza desde el punto de vista ambiental.

Últimamente la alelopatía ha atraído a un gran número de científicos de diversos rubros en todo el mundo y ahora es vista con un enfoque multifacético debido a que ven posible a través de esta satisfacer la creciente demanda de calidad y sostenibilidad en la

producción de alimentos para humanos, reducir el daño ambiental y los riesgos de salud derivados de productos químicos, minimizar la erosión del suelo y finalmente reducir la dependencia de los herbicidas sintéticos (Einhellig, 1996).

A modo de ejemplo, se logró comprobar experimentalmente que los residuos de alfalfa pueden utilizarse como herbicida natural debido a su efecto alelopático sobre muchas especies como ser *Digitaria sanguinalis* o *Amaranthus sp.*. Así las sustancias alelopáticas, sus análogos químicos y derivados prometen ser fuente para futuras síntesis y control de malezas menos dañinas para el ambiente (Blanco, 2006).

## 2.2. EVIDENCIA DE ALELOPATÍA

El aumento de la productividad agrícola ha sido una gran preocupación para la humanidad desde la domesticación de las plantas como cultivo, tal es así que se han encontrado extensos escritos sobre la interferencia química entre cultivos y malezas que datan desde el tiempo de los griegos y romanos (Aliotta et al., citados por Mallik, 2008c).

Así eruditos griegos y romanos como Cato (234 - 149 A.C), Varro (116 - 27 A.C) y Teofrasto (371 - 287 A.C), sugieren que “*Todas las plagas que surgen de la tierra, la tierra misma es el antídoto que se suministra*”, además publicaron prácticas agrícolas para minimizar los efectos negativos de las malezas y plagas en los cultivos. Estos mencionaron métodos tales como el rastrojo y la quema. Además Teofrasto por su parte escribió sobre el efecto inhibitorio de especies del género *Amaranthus* sobre la alfalfa (Dayan et al., 2009).

Desde el siglo XVII se conoce en los agroecosistemas europeos el fenómeno de la “enfermedad del suelo” causado por el trébol en Europa (Katznelson, citado por Mallik, 2008b). Ya en 1832 el botánico suizo De Candolle sugirió que el problema de la “enfermedad del suelo” en la agricultura intensiva y monocultivo podría estar causada por la autotoxicidad de los exudados de las plantas cultivadas, y que su posible solución sería la rotación de los mismos (Jackson y Willemsen, citados por Liu et al., 2008).

Uno de los primeros casos reportados sobre la evidencia de alelopatía fue el del nogal (*Juglans nigra* y *J. regia*) y Plinio pudo haber sido el primero en registrar dichos efectos. Esta planta alelopática es de las más conocidas ya que afecta a muchos cultivos y plantas vecinas ocasionándoles su marchitez y/o eventual muerte. Las hojas, raíces y frutos del nogal producen una hidroquinona que se oxida en el ambiente a juglone, y dicho compuesto es el responsable de los efectos tóxicos sobre otras plantas (Kocacaliskan y Terzi, citados por Lotina-Hennsen et al., 2006).

Si se habla de uno de los ejemplos más exitosos del control biológico clásico sobre malezas es el de la introducción de un hongo de roya, la condrilla (*Puccinia*), en Australia para controlar la maleza esquelética (*Chondrilla juncea*). Esta planta de origen mediterráneo, se convirtió en una maleza grave para los cultivos de cereales australianos,

y el hongo del mismo origen, fue introducido junto con tres insectos como un agente de control biológico clásico. Tras la introducción y el establecimiento, el hongo se diseminó rápida y ampliamente y se logró controlar el biotipo más común de la maleza. Se ha estimado que este exitoso proyecto de biocontrol ha dado como resultado una relación costo-beneficio muy favorable en Australia (Cullen, citado por Charudattan y Dinooor, 2000).

El primer reporte que evidencia la inducción química de la síntesis aleloquímica debido a la presencia de otra planta de otra especie fue la señalada por Kong et al., citados por Inderjit et al. (2006). Estos encontraron que la síntesis de dos compuestos fitotóxicos para *Echinochloa*, una flavona y una ciclohexenona se inducen en las plantas de arroz ante la presencia de la misma.

Como se ha mencionado anteriormente es importante destacar que la producción de aleloquímicos y por ende la acción de su evidencia está influenciada por factores abióticos como son la temperatura, luz, tipo de suelo, precipitaciones y por factores bióticos como el ciclo de vida, la competencia, patógenos, parásitos y/o acción de herbívoros. Así dicha producción varía según el órgano de la planta que lo produce, la estación del año en que se encuentre y las diferentes condiciones ambientales (Granéli y Salomon, Inderjit y Duke, citados por Scognamiglio et al., 2015). En esta misma línea Ferreira, citado por Gatti et al. (2010) señala que el efecto alelopático no se observa en el porcentaje de germinación final sino en la velocidad de germinación, y que esto puede proporcionar importantes indicios acerca del aleloquímico en cuestión.

La agricultura ecológica y sustentable a la que el mundo se dirige considera como fundamentales las herramientas del cero laboreo y las coberturas. Así Overland (1966), señala que los cultivos de cobertura o “cultivos de asfixia” se implantan con el objetivo de suprimir malezas y sugiere que la alelopatía contribuye a la interferencia de la cebada. Por su parte Rice, citado por Barnes y Putnam (1983) agrega que los cultivos de cobertura de *Hordeum vulgare L.*, *Secale cereale L.*, *Sorghum bicolor L.*, *Fagopyrus esculentum*, *Sorghum vulgare L.*, *Melilotus alba Desr.* y *Helianthus annuus L.* son alelopáticos para ciertas especies.

A su vez Barnes y Putnam (1983) le atribuyen a los rastrojos la capacidad de reducir la erosión y mejorar la retención de agua en el suelo. Shilling et al. (1985), agregan que los aleloquímicos presentes tanto en residuos de coberturas como en residuos de cultivos de trigo, cebada, avena, centeno, sorgo y hierba de Sudán, contribuyen significativamente a la supresión de malezas.

Un claro ejemplo de cultivo alelopático que comúnmente se utiliza como cobertura es el centeno (*Secale cereale*). McKinley, Patrick et al., citados por Putnam y DeFrank (1983) estudiaron la fitotoxicidad de los residuos de sus plantas en descomposición y obtuvieron dos conclusiones, que tanto los rastrojos como las plantas vivas liberan toxinas y que la toxicidad disminuye a medida que avanza el tiempo de

descomposición. En esta misma línea Shilling et al. (1985) evidenciaron que la habilidad del centeno para suprimir malezas es comparable al efecto de los tratamientos con herbicidas.

### 2.3. MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA ALELOPATÍA

El ensayo biológico de laboratorio es el primer paso que se utiliza para investigar la posible participación de la alelopatía (Foy, citado por Wu et al., 2001b). Numerosos autores han diseñado sus respectivos ensayos biológicos para lograr identificar el papel de la alelopatía en las interacciones donante-receptor.

Según Inderjit y Del Moral, citados por Inderjit et al. (2006) es muy importante diferenciar los efectos alelopáticos de la competencia por los distintos factores del ambiente ya que estos son mecanismos que ocurren simultáneamente en tiempo y espacio y a su vez muy difíciles de separar.

Por su parte Inderjit et al. (2006) señalan que pueden existir varios problemas a la hora de realizar una evaluación de la dinámica de los aleloquímicos en el suelo como ser la cuantificación de los mismos dadas las bajas concentraciones a las que estos se encuentran, el método de extracción que se utilice, entre otros.

Existen diversos métodos para evaluar el potencial alelopático y los efectos que se producen desde una planta donadora hacia otra receptora. Sin embargo para lograr resultados más significativos es importante encontrar el bioensayo más conveniente y confiable. Estos según el método utilizado y los recursos disponibles deben intentar ser baratos, rápidos y fáciles de operar, aplicables a una amplia gama de especies objetivo, ser reproducibles y estadísticamente válidos, y requieren de un tiempo y espacio limitado. Dado que ningún bioensayo individual cumple con todos estos requisitos, la combinación de diferentes bioensayos puede ser el mejor enfoque (Wu et al., 2001b).

En el presente trabajo el método utilizado para la detección de actividad alelopática fue básicamente el desarrollado por los científicos Fujii et al. (2003) y denominado por ellos como “método Sandwich” realizándose algunas mínimas modificaciones. Dichos autores han demostrado que este método además de ser una herramienta muy útil para detectar la alelopatía que causa el rastrojo en condiciones de laboratorio también permite analizar una gran cantidad de muestras en muy poco tiempo.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

Los experimentos incluidos en este estudio fueron conducidos en FAGRO. EEMAC. Laboratorios de Malherbología, localizados en Paysandú, durante los meses de octubre, noviembre y diciembre de 2017.

#### 3.2. DESCRIPCIÓN Y TRATAMIENTOS

Se realizaron 3 experimentos por separado, todos con el mismo número de tratamientos pero difiriendo en la especie utilizada como bioindicadora de los efectos que se estudiaron y fueron : *Brassica juncea* (mostaza), *Sorghum vulgare* (sorgo) y *Glycine max* (soja).

Las dos primeras fueron escogidas entre las especies sugeridas para estos estudios por su sensibilidad y en representación de una especie gramínea y otra de hoja ancha. Se agregó *Glycine max* porque era la especie de cultivo a sembrar sobre las coberturas y se pretendió conocer sobre los potenciales efectos en el cultivo en rotación. Sin embargo, cabe aclarar que esta especie, fue descartada desde el comienzo debido a los serios problemas de hongos que presentarían las semillas disponibles.

El total de tratamientos incluidos en los 3 experimentos fue de 11 y habiéndose utilizado 3 repeticiones resultó un total de 33 unidades experimentales en cada experimento, donde cada placa de petri representa una unidad experimental.

Los tratamientos consistieron en la combinación de los 5 rastrojos, *Avena sativa* (avena blanca), *Avena strigosa* (avena negra), *Triticosecale* (triticale), *Secale cereale* (centeno) y una mezcla de leguminosas, todos con alto y bajo rastrojo (correspondiendo a 4000 y 2000 kg/ha respectivamente) más un testigo sin rastrojo.

### 3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Todas las variables medidas son continuas y se analizaron en función del diseño utilizado. El modelo del experimento es un Diseño completamente al azar (DCA):

#### 3.3.1 Modelo experimental

Modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_{ij} + \beta_{ik} + \gamma_{jk} + \epsilon_i$$

Donde:

$Y_{ij}$  es la variable de respuesta

$\mu$  es la media general

$T_{ij}$  es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento (tipo de cobertura)

$\beta_{ik}$  es la cantidad de rastrojo

$\gamma_{jk}$  es el efecto de las interacciones

$\epsilon_{ij}$  es el error experimental

Cuando el efecto de los tipos de cobertura y cantidad de los mismos con respecto al testigo fue significativo, la separación de medias fue realizada a través de la prueba de Tukey.

Para la variable germinación, se hizo una transformación angular (arco seno de la raíz cuadrada de la proporción de germinadas) que hace que los supuestos del ANOVA se cumplan en forma aproximada.

### 3.4. INSTALACIÓN Y METODOLOGÍAS UTILIZADAS

En el presente trabajo como ya fue mencionado, el método utilizado para la detección de actividad alelopática fue el “método Sandwich” con algunas mínimas modificaciones.

El rastrojo utilizado fue colectado en un experimento a campo en el que se evaluaban los efectos de distintas coberturas invernales sobre el enmalezamiento inmediatamente después de desecar las coberturas.



Foto 1. Campo experimental con las distintas coberturas previo a la colecta

Se utilizaron placas de petri de vidrio con capacidad para 314 ml en las cuales se colocaron 150 ml de una solución de agar-agua al 0,3 % - 0,5 %. A dicha solución se le sembraron 70 semillas de las especies “receptoras” (*Sorghum vulgare* y *Brassica juncea*) y sobre esto se colocaron los respectivos rastrojos con potencial alelopático o “dador” en sus dos respectivas cantidades (simulando 2000 y 4000 kgs de M.S/ha, ver Foto 2). Posteriormente las placas sembradas se taparon con papel de aluminio y finalmente se colocaron en la cámara incubadora durante 48 horas bajo condiciones de temperatura y humedad controladas. A su vez dentro de cada repetición se colocaron placas de petri “testigo” las cuales contienen únicamente las semillas de las especies “receptoras” en la solución enriquecida de agar-agua al 0,3 % - 0,5 %.

Dentro de la cámara de incubación la temperatura fue de 25° C. Considerando que dentro de la misma todos los tratamientos y unidades experimentales fueron cubiertos totalmente con papel aluminio para evitar la presencia de luz, se asume que las condiciones de temperatura, humedad y luz son homogéneas.

Cabe aclarar que se utilizó *Glycine max* como una tercer especie indicadora o “receptora” pero finalmente se excluyó del experimento debido a los serios problemas de hongos que presentó.

Dado que trabajar experimentalmente con semillas de malezas, como por ejemplo *Lolium multiflorum*, *Conyza bonariensis*, entre otras es muy dificultoso y menos preciso, dicho experimento se realizó sobre las siguientes especies bioindicadoras, *Glycine max*, *Sorghum vulgare* y *Brassica juncea*. Las semillas de estas especies no sólo son más fáciles de manejar por su tamaño y homogeneidad, sino que también se les conoce su poder de germinación, vigor y demás características biológicas que las hacen favorables para su uso como bioindicadoras.

Sobre las especies bioindicadoras se colocó material muerto (rastrajo) de cinco coberturas invernales en dos cantidades de las diferentes simulando 2000 y 4000 kgs/M.S/ha (bajo y alto respectivamente).



Foto 2. Recipientes con semillas de *Sorghum vulgare* recién salidos de la cámara de crecimiento controlado (temperatura 25°C y en oscuridad)

### 3.5. DETERMINACIONES

Las determinaciones realizadas consistieron en la estimación del porcentaje de germinación de las 2 especies en todos los tratamientos y del largo de la radícula presente en las semillas germinadas.

Tal como sugiere la metodología adoptada del método Sandwich, luego de cumplidas las 48 horas de incubación, se destaparon las placas y se midieron en papel milimetrado una por una las radículas de las semillas germinadas de las especies “receptoras” (*Sorghum vulgare* y *Brassica juncea*) determinando así cuales habían germinado y cuál era su largo de radícula. Es importante remarcar que se consideran como germinadas todas las semillas que tuviesen una radícula igual o mayor a 1 mm de largo.

Estas estimaciones se efectuaron, tal como sugiere la metodología del Método Sandwich adoptado, al cumplirse las 48 horas de incubación en la cámara de crecimiento.

Para la estimación del porcentaje de germinación se procedió a contar el total de semillas germinadas, mientras que para la estimación del largo de radícula se estiró la raíz principal sobre una cuadrícula milimetrada tal como se observa en la siguiente foto:

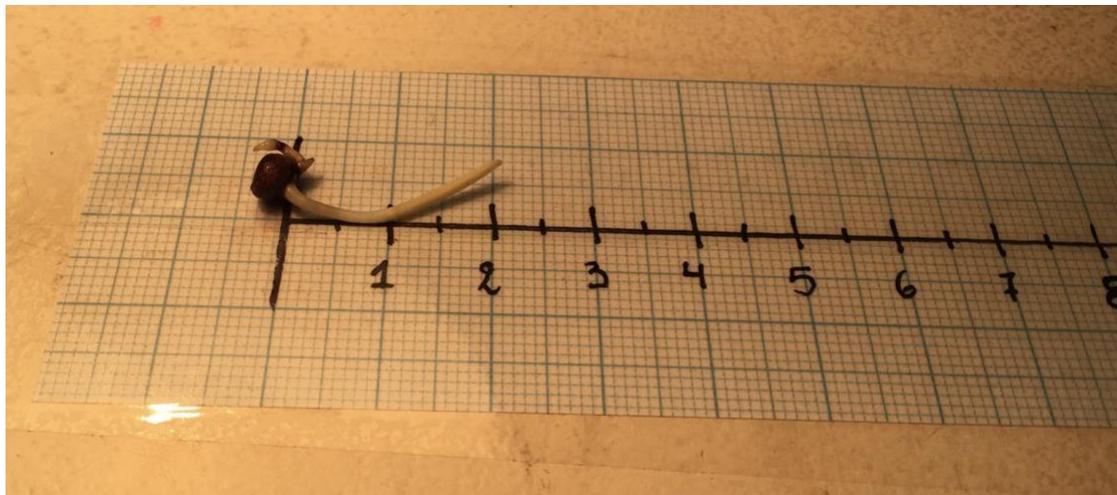


Foto 3. Determinación del largo de radícula de *Sorghum vulgare* en hoja milimetrada

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Con los resultados obtenidos en los experimentos se procesaron análisis de varianza con las variables estimadas y cuando los efectos fueron significativos las medias fueron comparadas por test de Tukey (0,05) utilizando el software Infostat.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan y discuten los resultados obtenidos tanto en *B.juncea* como *S.vulgare* separadamente para la variable germinación y largo de radícula. El resumen de todos los resultados obtenidos se presenta además en el Anexo 1.

### 4.1. GERMINACIÓN

#### 4.1.1. Germinación de *S.vulgare* (%) según el tipo y la cantidad de rastrojo

El ANAVA para esta variable señaló efectos significativos de tratamiento ( $p < 0.05$ ) resultando 5 tratamientos con germinaciones menores al testigo y 5 presentando un comportamiento intermedio sin diferenciarse del testigo pero tampoco de aquellos de menor germinación (Figura 1).

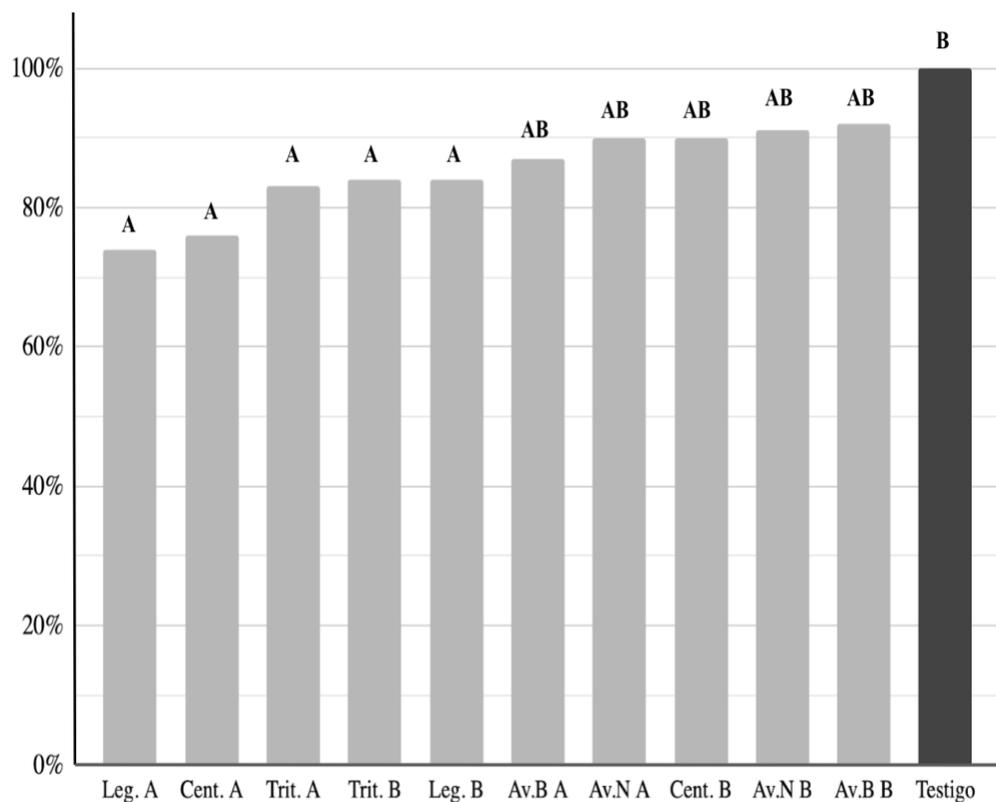


Figura 1. Germinación de *S.vulgare* según tipo y cantidad de rastrojo

Los rastrojos de leguminosas y triticale se diferenciaron del testigo y demás rastrojos determinando menores germinaciones en *S.vulgare* independientemente de sus cantidades ensayadas. El centeno también afectó la germinación de sorgo pero únicamente cuando se ensayó en altas cantidades mientras que cuando se ensayó en bajas cantidades, no se detectaron efectos al igual que en el resto de los tratamientos.

Si bien las leguminosas poseen potencial alelopático, considerando la bibliografía no se esperaban mayores efectos que con el resto de las especies ensayadas. Este menor efecto inicial observado podría explicarse por su más rápida descomposición respecto al de las coberturas de gramíneas dada su baja relación C/N. Respecto al triticale Weston (1996) indica que este logra altas inhibiciones en la emergencia de malezas y se lo atribuye a su reconocida capacidad de producir compuestos alelopáticos.

Tal como se observa en la Figura 1 el rastrojo de centeno también afecta la germinación de *S.vulgare* pero únicamente cuando se ensayó en altas cantidades. En coincidencia con este resultado Shilling et al. (1985), destacan que la habilidad del centeno para suprimir malezas es comparable al efecto de los tratamientos con herbicidas.

Por el contrario llamó la atención el resultado con los rastrojos de avena negra, avena blanca y centeno para los que se han citados altos potenciales alelopáticos tal como mencionan Audi y Rivero (2019) en su trabajo de tesis, en la germinación de *S.vulgare* no lograron diferenciarse del testigo.

#### 4.1.2. Germinación de *B.juncea* (%) según el tipo y la cantidad de rastrojo

Los resultados del análisis de varianza para esta variable señalaron efectos significativos de tratamiento ( $p < 0.05$ ) diferenciando a 4 tratamientos del testigo y a 6 de ellos con un comportamiento intermedio, con menor germinación pero sin diferenciarse del mismo (Figura 2).

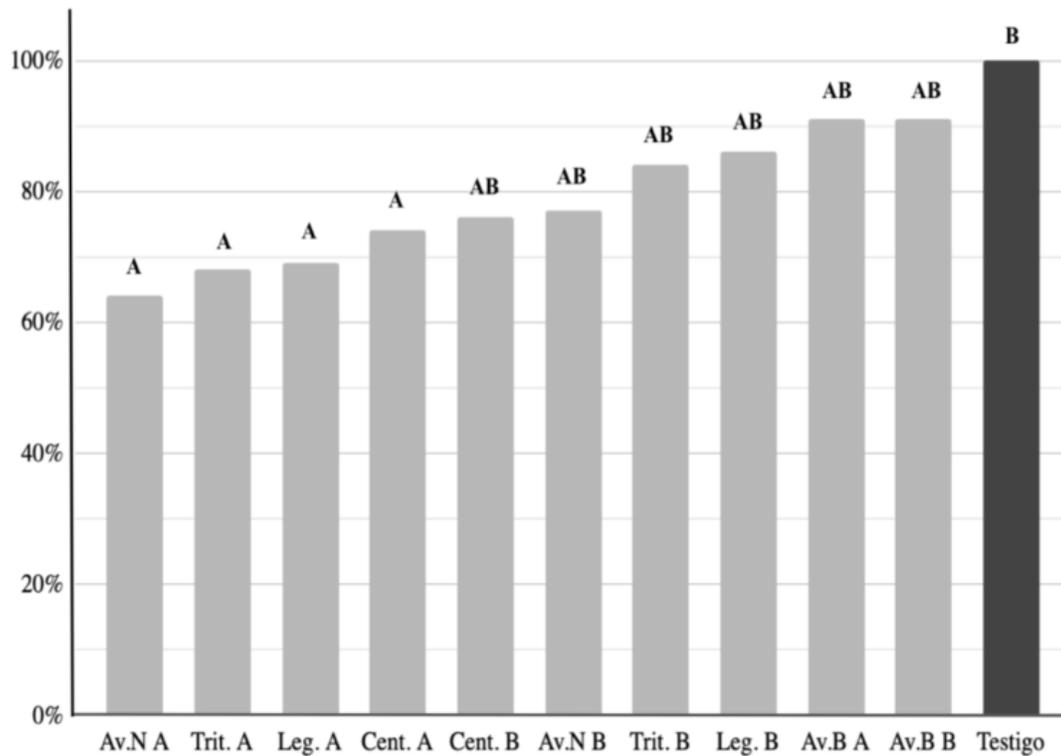


Figura 2. Germinación de *B.juncea* según tipo y cantidad de rastrojo

Los rastrojos de triticale, centeno, leguminosas y avena negra se diferencian sensiblemente del testigo afectando su germinación pero únicamente cuando se ensayan en altas cantidades de rastrojo. Cuando fueron ensayados en bajas cantidades, no lograron mostrar efectos significativos en la germinación de *B.juncea* ni respecto a la avena blanca ni respecto al testigo.

Por su parte la avena blanca no presenta diferencias con el testigo independientemente de su cantidad. Para este rastrojo las germinaciones de *B.juncea* fueron iguales tanto en altas como en bajas cantidades y a su vez muy similares al testigo.

Los resultados observados para la variable germinación muestran diferencias en los efectos entre las especies bioindicadoras estudiadas coincidentemente con lo que cita la bibliografía. Los efectos alelopáticos de las distintas especies presentan especificidad resultando diferenciales según la especie receptora (bioindicadoras).

El estudio de la variable germinación evidencia claramente la especificidad de los efectos alelopáticos como pudo observarse en el caso de avena negra. Esta especie no mostró efectos en la germinación del sorgo aunque presentó una significativa reducción de la germinación en *B. juncea*.

## 4.2. LARGO DE RADÍCULA

### 4.2.1. Medición de radícula de *S.vulgare* según tipo y cantidad de rastrojo

El Anava para esta variable señaló efectos significativos de tratamiento ( $p < 0.01$ ) resultando 4 tratamientos con largos de radícula menores al testigo y 6 presentando un comportamiento intermedio sin diferenciarse del testigo pero tampoco de aquellos de menor largo de radícula (Figura 3).

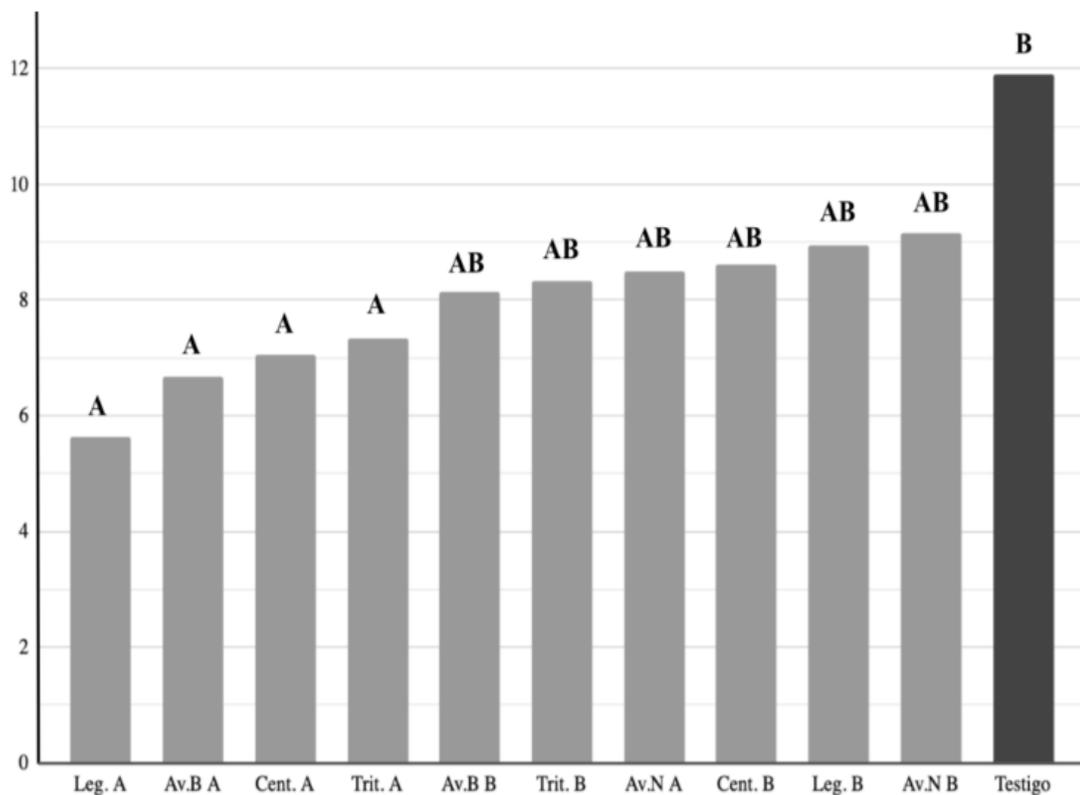


Figura 3. Largo de radícula (mm) de *S. vulgare* según tipo y cantidad de rastrojo

Los rastrojos de triticale, centeno, leguminosas y avena blanca se diferencian del testigo afectando el largo de radícula pero únicamente cuando se ensayan en altas cantidades de rastrojo. En bajas cantidades, no lograron diferenciarse del testigo.

La máxima reducción para el largo de radícula fue del 53 % y se dió con el rastrojo de leguminosas en alta cantidad.

A diferencia de lo observado en germinación, dónde no se detectaron efectos ni con altas ni bajas cantidades, aquí la avena blanca sólo afectó el largo de radícula de *S. vulgare* cuando estuvo presente en altas cantidades.

La avena negra no logró diferenciarse del testigo, ni en altas ni en bajas cantidades. Si bien estos rastrosos son considerados con un alto potencial alelopático, parecen ser pocos específicos para *S. vulgare* dado que sus tratamientos no tuvieron efectos ni en la germinación ni en el largo de radícula.

#### 4.2.2. Medición de radícula de *B. juncea* según tipo y cantidad de rastrojo

El análisis de varianza para esta variable señaló efectos muy significativos de tratamiento ( $p < 0.01$ ) resultando todos los tratamientos con largos de radícula menores al testigo con una reducción promedio del 60% (Figura 4).

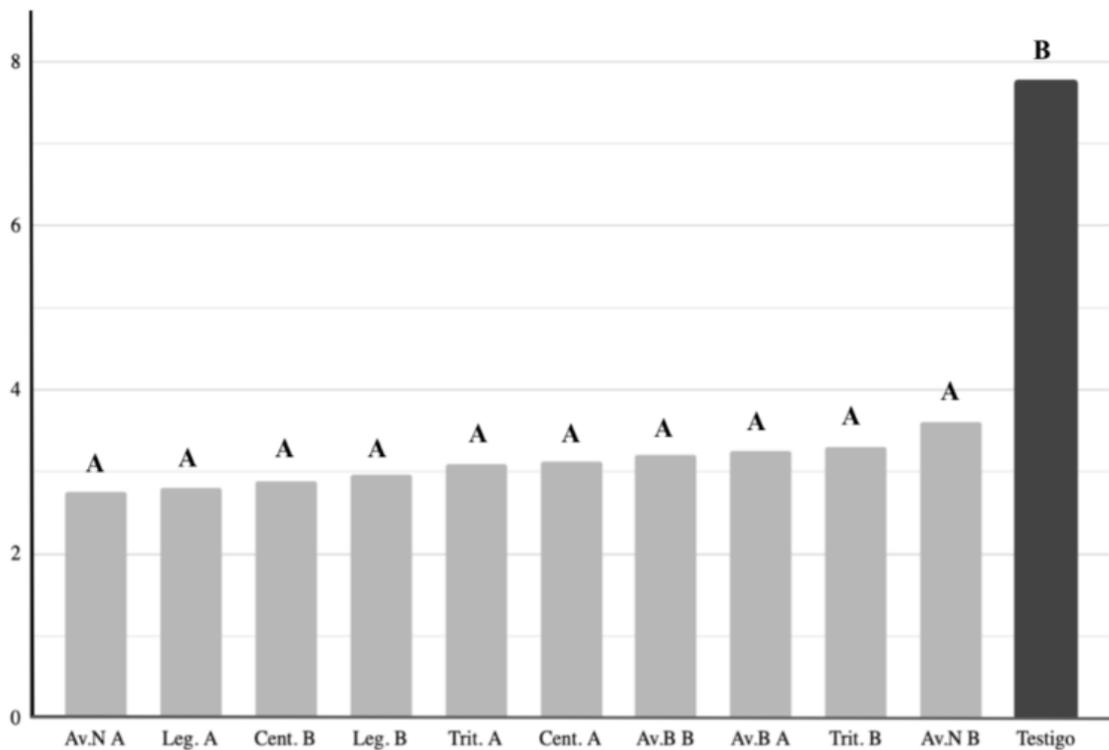


Figura 4. Largo de radícula (mm) de *B. juncea* según tipo y cantidad de rastrojo

El largo radicular de *B. juncea* se vió afectado por todos los rastrosos independientemente de la cantidad en que fueron ensayados. La mayor reducción estimada

alcanzó el 65 %, resultando un 12 % mayor que la mayor reducción observada en *S. vulgare*.

El rastrojo de avena negra en altas cantidades fue el tratamiento que más afectó el largo de radícula en *B. juncea* reduciéndola en un 65 % con respecto al testigo. Aquí se logra evidenciar otro caso de la especificidad de los efectos alelopáticos, mientras la avena negra en altas cantidades de rastrojo fue el tratamiento que más afectó el largo de radícula en *B. juncea*, en *S. vulgare* no tuvo efectos ni en el largo de radícula ni en la germinación ya que no logró diferenciarse del testigo.

Si bien todos los rastrojos afectaron el largo de radícula, se puede decir que los rastrojos de avena negra y centeno aparte de caracterizarse por ser alelopáticos en general, estos son específicamente alelopáticos para la especie de hoja ancha *B. juncea*. Este resultado guarda relación con el estudio a campo relacionado que fuera la tesis de Audi y Rivero (2019). En ese trabajo realizado en un año muy seco que pudo potenciar los efectos alelopáticos de los rastrojos de las coberturas, se encontraron efectos tanto en el crecimiento como en el desarrollo de la soja sembrada sobre los rastrojos de avena negra y centeno.

## 5. CONCLUSIONES

Los bioensayos permitieron relevar potencial alelopático en los rastrojos estudiados.

La germinación tanto de *S.vulgare* como de *B.juncea* fue menos afectada que el largo de la radícula confirmando tal como figura en la bibliografía la mayor sensibilidad de este último parámetro para la determinación de potencial alelopático.

Se observó especificidad en los efectos. Estos fueron, en todos los casos menores en *S. vulgare* que en *B.juncea* y también diferenciales según rastrojo. Así, avena negra no afectó la germinación ni el largo de radícula de *S.vulgare* aunque fue el rastrojo determinando las mayores reducciones en ambos parámetros en el caso de *B.juncea*.

La cantidad de rastrojo, parámetro medido como objetivo específico, mostró efectos significativos. Así para largo de radícula en *S.vulgare*, todos los rastrojos que se ensayaron en altas cantidades se diferenciaron del testigo disminuyendo el largo de radícula a excepción de avena negra.

Los distintos tipos de rastrojo mostraron diferencias en el potencial alelopático independientemente de los efectos de especificidad. Triticale y centeno demostraron un gran potencial alelopático tal como indica la bibliografía, sin embargo el rastrojo de leguminosas a diferencia de lo que indica la bibliografía, también demostró gran potencial alelopático tanto para germinación como para largo de radícula.

## 6. RESUMEN

En los últimos años *Lolium multiflorum* es considerada una de las especies de malezas más problemáticas en los cultivos de invierno, trigo y cebada, en el país. Su control es complejo debido principalmente al elevado costo de los herbicidas, sus acotadas ventanas de aplicación, la alta dependencia climática en su actividad, el potencial de daño al cultivo y el riesgo de creación de resistencias. Esta problemática ha incentivado la búsqueda de alternativas y/o la complementación al control químico. La utilización de algunos cultivos de servicio o cobertura han demostrado una interesante capacidad de interferir y/o suprimir malezas tanto durante su etapa de crecimiento activo como también durante la descomposición de sus rastrojos. El presente trabajo tuvo por objetivo estudiar el potencial alelopático de los rastrojos de *Avena sativa* (avena blanca), *Avena strigosa* (avena negra), *Triticosecale* (triticale), *Secale cereale* (centeno) y una mezcla de leguminosas sobre dos especies indicadoras *Brassica juncea* y *Sorghum vulgare* para luego inferir sobre el raigrás y otras malezas. A este objetivo se le suma otro aún más específico que consta de cuantificar el efecto alelopático para dos niveles de rastrojo, 2000 y 4000 kgs de M.S/ha. A tales efectos se instalaron 3 experimentos por separado y repetidos en 3 oportunidades durante los meses de octubre, noviembre y diciembre de 2017 en FAGRO. EEMAC. Laboratorios de Malherbología, localizados en Paysandú. Los tratamientos, dispuestos en un diseño completamente al azar con 3 repeticiones consistieron en la combinación de 5 rastrojos, *Avena sativa* (avena blanca), *Avena strigosa* (avena negra), *Triticosecale* (triticale), *Secale cereale* (centeno) y una mezcla de leguminosas con alto y bajo rastrojo (correspondiendo a 4000 y 2000 kg/ha respectivamente) más un testigo sin rastrojo siguiendo la metodología propuesta y denominado “método Sandwich” realizándose algunas mínimas modificaciones. Con las determinaciones del largo de radícula y porcentaje de germinación se evaluaron los efectos alelopáticos de las distintos rastrojos y sus respectivos niveles sobre las especies indicadoras. El rastrojo de avena negra fue el que determinó las mayores reducciones tanto para largo de radícula como para porcentaje de germinación pero solo sobre *Brassica juncea*, sin embargo no tuvo efecto ninguno sobre los dos parámetros medidos en *Sorghum vulgare*. Así dicho bioensayo permitió evidenciar la existencia de alelopatía y su alto grado de especificidad según la interacción entre especies. El porcentaje de germinación resultó ser menos sensible como parámetro que el largo de radícula.

Palabras clave: Alelopatía; Coberturas invernales; Rastrojo; Potencial alelopático.

## 7. SUMMARY

Over the last years *Lolium multiflorum* has been considered one of the most difficult species to handle in winter crops, namely wheat and barley in our country. Its control is especially complex mainly due to herbicides' high cost, their short application window period and tight dependence on weather conditions plus the potential risk of damaging the crop and creating resistance. This situation has provided a spur to explore suitable alternatives or rather to search for chemical control complementation. Service or cover crops have proved particularly useful in eradicating and controlling weeds both during active growth stage and stubble decomposition. The aim of the present dissertation is to study the allelopathic potentiality of the stubble of *Avena sativa* (white oat), *Avena strigosa* (black oat), *Triticosecale* (triticale), *Secale cereale* (rye) and a legume mix on two indicator species, *Brassica juncea* and *Sorghum vulgare*, so as to be able to infer on Ryegrass and other weeds afterwards. Apart from this first objective, a more specific goal is also established, the allelopathic effect for two stubble levels, 2000 and 4000 Kgs of D.M/ha. will be measured. Hence, three separate experiments were set up. They were repeated in three instances during the months of October, November and December 2017 at FAGRO. EEMAC. Malherbology laboratories in Paysandú, Uruguay. The random design of the fieldwork, with three repetitions, consisted of combining five stubbles *Avena sativa*, *Avena strigosa*, *Triticosecale*, *Secale cereale* and a legume mix with high and low stubble (with 4000 y 2000 kg of D.M/ha each) plus a control strip without stubble following the methodology suggested and named as the "sandwich method" with minor modification. By determining the radicle length and the germination percentage, the allelopathic effect on the different stubbles and their respective level on the indicator species were established. The black oat stubble was the one that produced the major reductions both in radicle length and in germination percentage but only on *Brassica juncea*. However, it had no effect whatsoever on neither of the two variables that were controlled on *Sorghum vulgare*. Consequently, the aforementioned bioassay made the existence of allelopathy evident. It also showed its marked specificity according to the interaction among species. The germination percentage proved to be less sensitive as a parameter than the radicle length.

Keywords: Allelopathy; Winter cover; Stubble; Allelopathic potential.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Arango, M. C. 2013. Intervención de los compuestos secundarios en las interacciones biológicas. In: Ringuelet, J.; Viña, S. eds. Productos naturales vegetales. Buenos Aires, Universidad de La Plata. pp. 191-256.
2. Arbeletche, P.; Gutiérrez, G. 2010. Crecimiento de la agricultura en Uruguay: exclusión social o integración económica en redes. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 113-138.
3. Argandoña, V. H.; Corcuera, L. J.; Niemeyer, H. M.; Campbell, B. C. 1983. Toxicity and feeding deterency of hydroxamic acids from Gramineae in synthetic diets against the greenbag, *Schizaphis graminum*. Entomology Experimental and Applied. 34:134-138.
4. Audi, C.; Rivero, X. E. 2019. Efecto residual de diferentes especies de cobertura invernal en el enmalezamiento en barbecho y cultivo de soja. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 36 p.
5. Bajguz, A.; Tretyn, A. 2003. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. Phytochemistry. 62(7):1027-1046.
6. Bárberi, P. 2004. Métodos preventivos y culturales para el manejo de malezas. Roma, FAO. s.p.
7. Barnes, J. P.; Putnam, A. R. 1983. Rye residues contribute weed suppression in no - tillage cropping system. Journal of Chemical Ecology. 9 (8):1045-1057.
8. Bartwal, A.; Mall, R.; Lohani, P.; Guru, S. K.; Arora, S. 2013. Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. Journal of Plant Growth Regulation. 32:216-232.
9. Blanco, Y. 2006. La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. Cultivos Tropicales. 27 (3):5-16.
10. Blum, U. 1996. Allelopathic interactions involving phenolic acids. Journal of Nematology. 28 (3):259-267.

11. Broz, A. K.; Broeckling, C. D.; De la Peña, C.; Lewis, M. R.; Greene, E.; Callaway, R. M.; Sumner, L. W.; Vivanco, J. M. 2010. Plant neighbor identity influences plant biochemistry and physiology related to defense. *BMC Plant Biology*. 10 (115):1-14.
12. Charudattan, R.; Dinoor, A. 2000. Biological control of weeds using plant pathogens: accomplishment and limitations. *Crop Protection*. 19:691-692.
13. Chang-Hung, C. 2006. Introduction to allelopathy. *In*: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; Gonzalez, L. eds. *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Dordrecht, Springer. pp. 1-9.
14. Cockell, C. S.; Knowland, J. 1999. Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews*. 74:323-325.
15. Dayan, F. E.; Duke, S. O. 2006. Clues in the search for new herbicides. *In*: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; Gonzalez, L. eds. *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Dordrecht, Springer. pp. 63-83.
16. \_\_\_\_\_; Cantrell, C. L.; Duke, S. O. 2009. Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 17:4022-4034.
17. Demmig - Adams, B. 2003. Linking the xanthophyll cycle with thermal energy dissipation. *Photosynthesis Research*. 76:73-80.
18. Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Rimando, A. M.; Schrader, K. K.; Aliotta, G.; Oliva, A.; Romagni, J. G. 2002. Chemicals from nature for weed management. *Weed Science*. 50(2):145-146.
19. Dyck, E.; Liebman, M.; Erich, M. S. 1995. Crop-weed interference as influenced by a leguminous or synthetic fertilizer nitrogen source: I. Double Cropping experiments with crimson clover, sweet corn, and lambsquarters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 56:105-106.
20. Edreva, A.; Velikova, V.; Tsonev, T.; Dagnon, S.; Gürel, A.; Aktas, L.; Gesheva, E. 2008. Stress-Protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *General Applications in Plant Physiology*. 34 (1-2):67-77.
21. Einhellig, F. A.; Leather, G. R. 1988. Potentials for exploring allelopathy to enhance crop production. *Journal of Chemical Ecology*. 14 (10):1829-1830.

22. \_\_\_\_\_. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal*. 88(6):886-893.
23. Eom, S. H.; Yang, H. S.; Weston, L. A. 2006. An evaluation of the allelopathic potential of selected perennial groundcovers: foliar volatiles of catmint (*Nepeta x faassenii*) inhibit seedling growth. *Journal of Chemistry and Ecology*. 32:1835-1837.
24. Ferreira, A. G.; Aquila, M. E. A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*. 12(1):175-204.
25. Friebe, A.; Vilich, V.; Hennig, L.; Kluge, M.; Sicker, D. 1998. Detoxification of benzoxazolinone allelochemicals from wheat by *Gaeumannomyces graminis* var. tritici, *G. graminis* var. graminis, *G. graminis* var. avenae, and *Fusarium culmorum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 64 (7):2386-2391.
26. Fujii, Y.; Par vez , S. S.; Par vez, M. M.; Ohmae, Y.; Iida, O. 2003. Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. *Weed Biology and Management*. 3:233-234.
27. Fürstenberg-Hägg, J.; Zagrobelny, M.; Bak, S. 2013. Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*. 14:10262-10263.
28. Gatti, A. B.; Ferreira, A. G.; Arduin, M.; Gualtieri, S. C.; Perez, A. 2010. Allelopathic effects of aqueous extracts of *Artistolochia esperanzae* O.Kuntze on development of *Sesamum indicum* L. seedlings. *Acta Botânica Brasileira*. 24(2):454-461.
29. Gelsomino, A.; Araniti, F.; Lupini, A.; Princi, G.; Petrovičová, B.; Abenavoli, M. R. 2015. Phenolic acids in plant-soil interactions: a microcosm experiment. *Journal of Allelochemical Interactions*. 1:34-37.
30. Haig, T. 2008. Allelochemicals in plants. In: Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. eds. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York, Springer. pp. 63-104.
31. Harper, J. R.; Balke, N. E. 1981. Characterization of the inhibition of K absorption in oat roots by salicylic acid. *Plant Physiology*. 68:1349-1353.
32. Heldt, H. W.; Piechulla, B.; Heldt, F. 2011. *Plant Biochemistry*. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. 4th. ed. London, Elsevier. pp. 431-449.

33. Henning, C. P. 2013a. Compuestos secundarios nitrogenados: alcaloides. In: Ringuelet, J.; Viña, S. eds. Productos naturales vegetales. Buenos Aires, Universidad de La Plata. pp. 18-61.
34. \_\_\_\_\_; Yordaz, R. M. 2013b. Otros compuestos secundarios nitrogenados y compuestos azufrados. In: Ringuelet, J.; Viña, S. eds. Productos naturales vegetales. Buenos Aires, Universidad de La Plata. pp. 62-90.
35. Humphry, R. W.; Mortimer, M.; Marrs, R. H. 2001. The effect of plant density on the response of *Agrostemma githago* to herbicide. *Journal of Applied Ecology*. 38:1290-1302.
36. Hussain, I.; Singh, N. B.; Singh, A.; Singh, H. 2017. Allelopathic potential of sesame plant leachate against *Cyperus rotundus*. *Annals of Agrarian Science*. 15:141-147.
37. Inderjit, S.; Weiner, J. 2001. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 4 (1):3-12.
38. \_\_\_\_\_; Duke, S. O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*. 217:529-539.
39. \_\_\_\_\_; Weston, L. A.; Duke, S. O. 2006. Challenges, achievements and opportunities in allelopathy research. *Journal of Plant Interactions*. 1 (2):69-81.
40. Karban, R. 2007. Experimental clipping of sagebrush inhibits seed germination of neighbours. *Ecology Letters*. 10:791-797.
41. Kim, K. U.; Shin, D. H. 2008. Progress and prospect of rice allelopathy research. In: Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. eds. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York, Springer. pp. 189-213.
42. Kruse, M.; Strandberg, M.; Strandberg, B. 2000. Ecological effects of allelopathic plants - a review. *Neri Technical Report*. 315:5-64.
43. Leather, G. R. 1983. Weed control using allelopathic crop plants. *Journal of Chemical Ecology*. 9 (8):983-988.

44. Li, Y.; Trush, M. A. 1994. Reactive Oxygen-Dependent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. *Cancer Research*. 54:1895-1898.
45. Lira, R. K.; Fortes, A. M. T.; Camozzato, A. M. 2010. Alelopatia de espécies forrageiras na germinação e no crescimento da soja. *Revista Cultivando o Saber*. 3(4):67-75.
46. Liu, Y. H.; Zeng, R. S.; An, M.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. 2008. Autotoxicity in agriculture and forestry. In: Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. eds. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York, Springer. pp. 283-301.
47. Lorenzo, P.; González, L. 2010. Alelopatía: una característica ecofisiológica que favorece la capacidad invasora de las especies vegetales. *Ecosistemas*. 19 (1):79-91.
48. Loreto, F.; Förster, A.; Dürr, M.; Csiky, O.; Seufert, G. 1998. On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes. *Plant, Cell and Environment*. 21:101-102.
49. Lotina-Hennsen, B.; King-Díaz, B.; Aguilar, M. I.; Hernández Terrones, M. G. 2006. Plant secondary metabolites. Targets and mechanisms of allelopathy. In: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; Gonzalez, L. eds. *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Dordrecht, Springer. pp. 229-265.
50. Lovett, J.; Ryuntyu, M. 1992. *Allelopathy: broadening the context*. London, Chapman and Hall. pp. 11-12.
51. Macías, F. A.; Galindo, J. C. G.; Molinillo, J. M. G.; Cutler, H. G. 2004. Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals. Danvers, CRC. pp. 231 - 232.
52. Mallik, A. U. 2008a. Allelopathy: advances, challenges and opportunities. In: Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. eds. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York, Springer. pp. 25-38.
53. \_\_\_\_\_. 2008b. Autotoxicity in agriculture and forestry. In: Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. eds. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York, Springer. pp. 283-301.

54. \_\_\_\_\_. 2008c. Introduction: allelopathy research and application in sustainable agriculture and forestry. In: Zeng, R. S.; Mallik, A. U.; Luo, S. M. eds. *Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry*. New York, Springer. pp. 1-7.
55. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2018. Encuesta agrícola “primavera 2017”. Montevideo. pp. 15-16.
56. Moran, J. F.; Klucas, R. V.; Grayer, R. J.; Abian, J.; Becana, M. 1997. Complexes of iron with Phenolic compounds from soybeans nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*. 22 (5):861-870.
57. Murungu, F.; Chiduzo, C.; Muchaonyerwa, P. 2010. Biomass accumulation weed dynamics and nitrogen uptake by winter cover crops in a warm-temperate region of South Africa. *African Journal of Agricultural Research*. 5 (13):1632-1642.
58. Niemeyer, H. M. 1988. Hydroxamic acids (4-Hydroxy-1,4-Benzoxazin-3-one) defence chemicals in the Gramineae. *Phytochemistry*. 27 (11):3349-3355.
59. Obst, J. R. 1998. Special (secondary) metabolites from wood. In: Bruce, A.; Palfreyman, J. eds. *Forest Products Biotechnology*. London, Taylor & Francis. pp. 151-166.
60. Ohno, T. 2001. Oxidation of phenolic derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity. *Journal of Environmental Quality*. 30:1631-1635.
61. Olofsdotter M.; Jensen, L. B.; Courtois, B. 2002. Improving crop competitive ability using allelopathy – an example from rice. *Plant Breeding*. 121:1-9.
62. Ormeño-Nuñez, 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. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 68 (3):238-247.
63. Overland, L. 1966. The role of allelopathic substances in the “smother crop” barley. *American Journal of Botany*. 53 (5):430-431.
64. Pedrol, N.; González, L.; Reigosa, M. J. 2006. Allelopathy and abiotic stress. In: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; Gonzalez, L. eds. *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Dordrecht, Springer. pp. 171-209.

65. Picman, A. K. 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*. 14 (3):255-281.
66. Putnam, A. R.; DeFrank, A. 1983. Use of phytotoxic plant residues for selective weed control. *Crop protection*. 2(2):173-181.
67. \_\_\_\_\_. 1985. Allelopathic research in agriculture; past highlights and potential. In: Thompson, A. C. ed. *The chemistry of allelopathy, biochemical interactions among plants*. Washington, D. C., American Chemical Society. pp. 1-8.
68. \_\_\_\_\_. 1988. Allelochemicals from plants as herbicides. *Weed Technology*. 2(4):510-518.
69. Reigosa, M. J.; Sánchez - Moreiras, A.; González, L. 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 18 (5):577-608.
70. \_\_\_\_\_.; Gomes, A. S.; Ferreira, A. G.; Borghetti, F. 2013. Allelopathic research in Brazil. *Acta Botanica Brasilica*. 27 (4):629-646.
71. Ringuélet, J. A.; Viña, S. Z. 2013a. Introducción a los productos naturales Fvegetales. In: Ringuélet, J.; Viña, S. eds. *Productos naturales vegetales*. Buenos Aires, Universidad de La Plata. pp. 4-17.
72. \_\_\_\_\_. 2013b. Terpenoides. In: Ringuélet, J.; Viña, S. eds. *Productos naturales vegetales*. Buenos Aires, Universidad de La Plata. pp. 151-190.
73. Rizvi, S. J. H.; Haque, H.; Singh, V. K.; Rizvi, V. 1992. *A discipline called allelopathy*. London, Chapman and Hall. pp. 1-2.
74. Sakihama, Y.; Cohen, M. F.; Grace, S. C.; Yamasaki, H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*. 177:68-71.
75. Scognamiglio, M.; D'Abrosca, B.; Esposito, A.; Fiorentino, A. 2015. Metabolomics: an unexplored tool for allelopathy studies. *Journal of Allelochemical Interactions*. 1:9-23.
76. Shilling, D. G.; Liebl, R. A.; Worsham, A. D. 1985. Rye (*Secale cereale* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) mulch: the suppression of certain broadleaved weeds and the isolation and identification of phytotoxins. In:

Thompson, A. C. ed. *The Chemistry of Allelopathy: biochemical interactions among plants*. Washington, D. C., American Chemical Society. cap. 17, pp. 243-271 (ACS Symposium Series v. 268).

77. Sołtys, D.; Krasuska, U.; Bogatek, R.; Gniazdowska, A. 2013. Allelochemicals as bioherbicides present and perspectives. *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*. 20:517-542.
78. Tharayil, N. 2009. To survive or to slay. *Plant Signaling and Behavior*. 4 (7):580-583.
79. Turlings, T. C. J.; Loughrin, J. H.; Mc Call, P. J.; Rose, U. S. R.; Lewis, W. J.; Tumlinson, J. H. 1995. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*. 92:4169-4174.
80. Viña, S. Z. 2013. Compuestos fenólicos. *In*: Ringuélet, J.; Viña, S. eds. *Productos naturales vegetales*. Buenos Aires, Universidad de La Plata. pp. 91-150.
81. Weidenhamer, J. D. 2006. Distinguishing allelopathy from resource competition: the role of density. *In*: Reigosa, M. J.; Pedrol, N.; Gonzalez, L. eds. *Allelopathy: a physiological process with ecological implications*. Dordrecht, Springer. pp. 85-103.
82. Weston, L. A. 1996. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. *Agronomy Journal*. 88(6):860-866.
83. \_\_\_\_\_. 2005. History and current trends in the use of allelopathy for weed management. *Hort Technology*. 15 (3):529-534.
84. Wink, M. 2000. Interference of alkaloids with neuroreceptors and ion channels. *In*: Atta-ur-Rahman. ed. *Studies in Natural Products*. Heidelberg, Elsevier. pp. 3-122 (Volume 21, part B).
85. Winkel-Shirley, B. 2002. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 5:218-223.
86. Whittaker, R. H.; Feeny, P. P. 1971. Allelochemicals: chemical interactions among plants. *Science*. 171:757-770.
87. Wu, H.; Pratley, J.; Lemerle, D.; Haig, T. 1999. Crop cultivars with allelopathic capability. *Weed Research*. 39(3):171-180.

88. \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. 2001a. Allelochemicals in wheat (*Triticum aestivum* L.): production and exudation of 2,4- Dihydroxy-7-Methoxy-1,4-Benzoxazin-3-One. *Journal of Chemical Ecology*. 27 (8):1691-1693.
89. \_\_\_\_\_.; Pratley, J.; Lemerle, D.; An, M.; Haig, T. 2001b. Screening methods for the evaluation of crop allelopathic potential. *The Botanical Review*. 67 (3):403-415.
90. Yamasaki, H.; Heshiki, R.; Ikehara, N. 1995. Leaf-goldening induced by high light in *Ficus microcarpa* L. *Journal of Plant Research*. 108:171-180.
91. Yoneyama, K.; Saruta, T.; Ogasawara, M.; Konnai, M.; Asami, T.; Abe, T.; Yoshida, S. 1996. Effects of grandinol and related phloroglucinol derivatives on transpiration and stomatal closure. *Plant Growth Regulation*. 19(1):7-11.
92. Zamorano, C. 2006. Alelopatía: un nuevo reto en la ciencia de las arvenses en el trópico. *Agronomía*. 14 (1):7-15.

## 9. ANEXOS

Cuadro 1. Resumen de resultados promedio para las variables analizadas en *S.vulgare*

ESPECIE	COBERTURA	CANTIDAD de RASTROJO	PROMEDIO de LARGO (mm)	GERMINACIÓN (%)
S O R G O	Av. blanca	4000	6,68	86,51%
		2000	8,12	91,91%
	Av. negra	4000	8,45	89,71%
		2000	9,20	90,83%
	Cent.	4000	7,25	76,25%
		2000	8,58	90,30%
	Leg.	4000	6,22	74,43%
		2000	8,94	84,32%
	Trit.	4000	7,28	83,21%
		2000	8,42	83,77%
	Testigo	0	-	-
		0	-	-

Cuadro 2. Resumen de resultados promedio para las variables analizadas en *B.junceae*

ESPECIE	COBERTURA	CANTIDAD de RASTROJO	PROMEDIO de LARGO (mm)	GERMINACIÓN (%)
B R A S S I C A	Av. blanca	4000	2,95	91,32%
		2000	3,34	91,01%
	Av. negra	4000	2,73	64,21%
		2000	3,68	77,40%
	Cent.	4000	2,99	73,72%
		2000	2,80	76,29%
	Leg.	4000	2,65	68,58%
		2000	3,05	86,16%
	Trit.	4000	3,23	67,75%
		2000	3,38	83,86%
	Testigo	0	-	-
		0	-	-

Cuadro 3. Largo de radícula de *S.vulgare* según tipo y cantidad de rastrojo

COBERTURA	CANTIDAD de RASTROJO	PROMEDIO de LARGO (mm)	
Av. blanca	Alto	6,68	A
	Bajo	8,14	AB
Av. negra	Alto	8,49	AB
	Bajo	9,16	AB
Cent.	Alto	7,06	A
	Bajo	8,61	AB
Leg.	Alto	5,64	A
	Bajo	8,95	AB
Trit.	Alto	7,34	A
	Bajo	8,34	AB
Testigo	Cero	11,90	B

Cuadro 4. Largo de radícula de *B.juncea* según tipo y cantidad de rastrojo

COBERTURA	CANTIDAD de RASTROJO	PROMEDIO de LARGO (mm)	
Av. blanca	Alto	3,25	A
	Bajo	3,21	A
Av. negra	Alto	2,75	A
	Bajo	3,61	A
Cent.	Alto	3,12	A
	Bajo	2,88	A
Leg.	Alto	2,81	A
	Bajo	2,97	A
Trit.	Alto	3,09	A
	Bajo	3,30	A
Testigo	Cero	7,76	B

Cuadro 5. Germinación de *S.vulgare* según tipo y cantidad de rastrojo

COBERTURA	CANTIDAD de RASTROJO	GERMINACIÓN (%)	
Av. blanca	Alto	86,51%	AB
	Bajo	91,91%	AB
Av. negra	Alto	89,71%	AB
	Bajo	90,83%	AB
Cent.	Alto	76,25%	A
	Bajo	90,30%	AB
Leg.	Alto	74,43%	A
	Bajo	84,32%	A
Trit.	Alto	83,21%	A
	Bajo	83,77%	A
Testigo	Cero	100%	B

Cuadro 6. Germinación de *B.juncea* según tipo y cantidad de rastrojo

COBERTURA	CANTIDAD de RASTROJO	GERMINACIÓN (%)	
Av. blanca	Alto	91,32%	AB
	Bajo	91,01%	AB
Av. negra	Alto	64,21%	A
	Bajo	77,40%	AB
Cent.	Alto	73,72%	A
	Bajo	76,29%	AB
Leg.	Alto	68,58%	A
	Bajo	86,16%	AB
Trit.	Alto	67,75%	A
	Bajo	83,86%	AB
Testigo	Cero	100%	B