

Potencial alelopático de *Brassica campestris subsp. rapa* y *Lolium temulentum* sobre la germinación de semillas de tomate

Allelopathic potential of *Brassica campestris subsp. rapa* and *Lolium temulentum* regarding tomato seed germination

Carolina Zamorano¹ y Cilia L. Fuentes²

Resumen: Con el objeto de evaluar el potencial alelopático de los extractos de hojas de nabo (*Brassica campestris subsp. rapa*) y raigrás (*Lolium temulentum*), utilizando dos solventes (agua y metanol), se desarrollaron bioensayos con semillas pregerminadas de tomate en el laboratorio de Malherbología de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Los bioensayos tuvieron un diseño de bloques al azar con tres repeticiones y se replicaron tres veces. Las concentraciones de los extractos utilizados fueron 10, 25, 50 y 100 g · L⁻¹. Como variables se midieron: el porcentaje de germinación, la longitud del brote aéreo y raíz y, adicionalmente, se calculó el porcentaje de elongación con respecto al control. No hubo efectos de los extractos sobre la germinación de semillas de tomate. Los extractos acuosos de nabo tuvieron efectos estimulantes sobre la elongación de la raíz del tomate, con concentraciones de 10 g · L⁻¹, y perjudiciales en el rango de 25 a 100 g · L⁻¹; la concentración que redujo el crecimiento en 50% (DC₅₀) estuvo entre 44 y 49 g · L⁻¹, para la longitud de raíz y de brote aéreo, respectivamente. Los extractos metanólicos de nabo disminuyeron la elongación de la raíz de tomate a medida que aumentaba la concentración del extracto. El efecto de los extractos de raigrás sobre la elongación de la raíz del tomate fue similar con los dos solventes, disminuyéndola 40% en promedio con las concentraciones de 10 a 100 g · L⁻¹; la DC₅₀ se calculó para el porcentaje de elongación de la raíz con extracto acuoso y fue 10 g · L⁻¹.

Palabras claves adicionales: *Lycopersicon esculentum*, alelopatía, extracto

Abstract: Bioassays were carried out for evaluating the allelopathic potential of 10, 25, 50, and 100 g · L⁻¹ aqueous and methanolic concentrations of turnip (*Brassica campestris subsp. rapa*) and ryegrass (*Lolium temulentum*) leaf extracts in pre-germinated tomato seeds in the Universidad Nacional de Colombia's Weed Science laboratory. Germination percentage and shoot and root elongation were measured; elongation and germination inhibition were also calculated. Results did not reveal any effects of the extracts (10, 25, 50 and 100 g · L⁻¹) on tomato seed germination. Aqueous turnip extracts were seen to stimulate tomato root elongation at 10 g · L⁻¹ and be detrimental at 25 to 100 g · L⁻¹. DC₅₀ was 44 and 49 g · L⁻¹ for root and shoot elongation, respectively. Methanolic turnip extracts reduced tomato root elongation as extract concentration increased. Ryegrass extract effect on tomato root elongation response was similar regarding the two solvents (aqueous and methanolic); it became reduced by 40% at concentrations of 10 to 100 g · L⁻¹; DC₅₀ calculated for aqueous extract root elongation was 10 g · L⁻¹.

Additional key words: *Lycopersicon esculentum*, allelopathy, extract

Introducción

LA MAYORÍA DE LOS COMPUESTOS ALELOPÁTICOS se ha obtenido de las especies vegetales, aunque reciente-

mente, como lo estudió Kremer (2000), se ha explorado el potencial de los microorganismos del suelo. Por su parte, los avances en las técnicas analíticas y bioquímicas, entre otras, en los métodos de extracción e

Fecha de recepción: 05 de septiembre de 2005
Aceptado para publicación: 21 de noviembre de 2005

¹ Docente, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá (Colombia). e-mail: carolina.zamoranom@gmail.com

² Profesora titular, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. e-mail: ciliafuentes@lycos.com

identificación de compuestos activos e, incluso, en los bioensayos, han permitido desarrollos importantes en el campo de la alelopatía.

Tukey (1966) reporta trabajos sobre lixiviados obtenidos a partir de hojas, aunque anota que otras partes de las plantas pueden liberar compuestos alelopáticos al contacto con agua. Este método es uno de los que con más frecuencia se utiliza en tejidos de tallos y raíces de plantas que se sospecha tienen potencial alelopático; por su parte, Liebman y Ohno (1998) anotan que en estos lixiviados lo más importante es mantener la estabilidad de las sustancias extraídas.

La extracción de los compuestos de las especies que se presumen con potencial alelopático es una parte primordial en los bioensayos (Inderjit y Dakshini, 1994), y dentro de ellos se encuentra la discriminación entre solventes orgánicos e inorgánicos.

En especies de los géneros *Brassica* y *Sinapis* (Cruciferae) se han identificado compuestos alelopáticos como alil isotiocianato y β -fenetil isotiocianato (Choesin y Boerner, 1991), y Carpentier *et al.* (1998), que emplearon diferentes solventes para la extracción de compuestos alelopáticos en *Brassica napus*, sugieren que el uso del metanol puede evitar el problema de la actividad de la enzima mirosinasa (que descompone compuestos como los glucosinolatos, comunes en la familia Brassicaceae) y reduce la extracción de compuestos indeseables; sin embargo, también sugieren que el metanol es un solvente tóxico. En *L. temulentum*, Hartley *et al.* (1988) encontraron en las paredes celulares compuestos fenólicos relacionados con el ácido ferúlico y cumárico, compuestos solubles en agua.

En la mayoría de los bioensayos con compuestos alelopáticos se prefiere hacer las evaluaciones con especies cultivadas sensibles. Macías *et al.* (2000) sugieren que el uso de semillas de cultivos comerciales permite generar modelos generales sobre los aleloquímicos y, en especial, en lo referente a efectos estimulantes. Esas semillas tienen además la ventaja de ser genéticamente más homogéneas que las semillas de malezas, germinar uniformemente y estar disponibles con facilidad.

El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos causados por extractos en dos tipos de solventes (agua y metanol) de *Brassica campestris subsp. rapa* (L.) Calpham y de *Lolium temulentum* L., sobre tomate *Lycopersicon esculentum* var. Santa Clara, una planta muy sensible a herbicidas.

Materiales y métodos

Se realizaron bioensayos con diferentes concentraciones de los extractos acuosos y metanólicos de *Brassica campestris subsp. rapa* y de *Lolium temulentum* (10, 25, 50, y 100 g · L⁻¹). Los extractos (5 mL) se utilizaron para humedecer el papel filtro de una caja Petri, en donde se colocaron semillas pregerminadas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Santa Cruz Kada); esto con el fin de garantizar la viabilidad de la semilla.

Las semillas se colocaron en una cámara de crecimiento (WTB-Binder) a 28 °C y completa oscuridad. Siete días después de la exposición a los extractos, se registró el porcentaje de germinación, la longitud del brote aéreo (cm) y de la raíz (cm) y se calculó el porcentaje de inhibición de la elongación del brote y la raíz, con respecto al testigo sin tratar, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{L \text{ testigo} - L \text{ raíz/brote}}{L \text{ testigo}} \cdot 100$$

donde, L: longitud (promedio para el testigo).

Se realizaron regresiones log-logísticas siguiendo el modelo propuesto por Seefeldt *et al.* (1995):

$$Y = C + \frac{D - C}{1 + (X/DC_{50})^b}$$

$$Y = C + \frac{D - C}{1 + \exp [b(\log(X) - \log(DC_{50}))]}$$

donde, c: límite inferior (concentración alta)

D: límite superior (concentración baja)

b: pendiente

DC₅₀: concentración que reduce el crecimiento en 50%.

El modelo se empleó sobre los datos de longitudes de raíces y brotes aéreos en cada uno de los experimentos y se efectuaron regresiones *probit* para los porcentajes de elongación, con respecto al control. De esas regresiones se escogieron las curvas que mejor describieran la respuesta, con base en el valor de la concentración DC₅₀ calculada en cada caso.

Resultados y discusión

El porcentaje de elongación, con respecto al control de la raíz de tomate con extractos acuosos de *B. campestris subsp. rapa* (figura 1), tuvo un comportamiento decreciente: la elongación de la raíz con respecto al testigo

disminuyó con el aumento de la concentración. Con la concentración de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ no se obtuvo inhibición de la elongación de la raíz, resultado que coincide con lo que sugieren Butgko y Jensen (2002) sobre los extractos de tejidos vegetales, que en bajas concentraciones frecuentemente estimulan la germinación y/o el crecimiento de una planta.

En el caso del extracto en metanol (figura 1), la inhibición en la elongación mostró una relación directa con la concentración del extracto: a mayor concentración, mayor inhibición en la elongación de la raíz con respecto al control. Esa respuesta estaría relacionada con lo que referencian Carpentier *et al.* (1998) sobre el uso del metanol que, al evitar la actividad de una enzima, hace menos variable el efecto del extracto de *B. campestris subsp. rapa*, si se compara con el comportamiento del extracto acuoso.

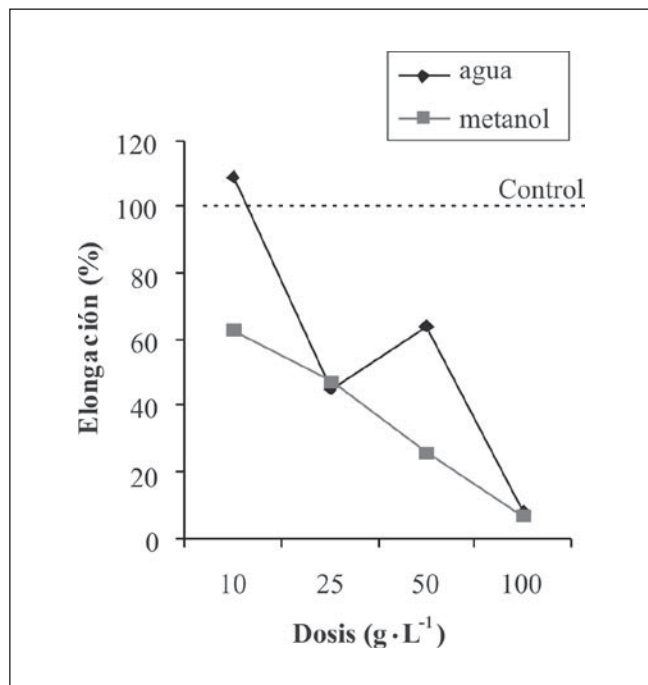


Figura 1. Porcentaje de elongación con respecto al control de la raíz de plántulas de tomate, *Lycopersicon esculentum*, utilizando agua y metanol como solventes de extractos foliares de *Brassica campestris subsp. rapa*.

Para ambos solventes, el valor máximo de reducción de crecimiento estuvo por encima de 80%, lo que sugiere el efecto detrimental de extractos de esta especie al ser utilizados en cultivos como el tomate, así como el gran beneficio para el control de flora no deseada dentro de los sistemas de cultivo.

La tendencia observada con los extractos de *L. temulentum* resultó ser similar para ambos solventes (figura 2), lográndose una relación directa entre la inhibición de la elongación de la raíz con respecto al control y la concentración de los extractos, con concentraciones entre 10 y $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

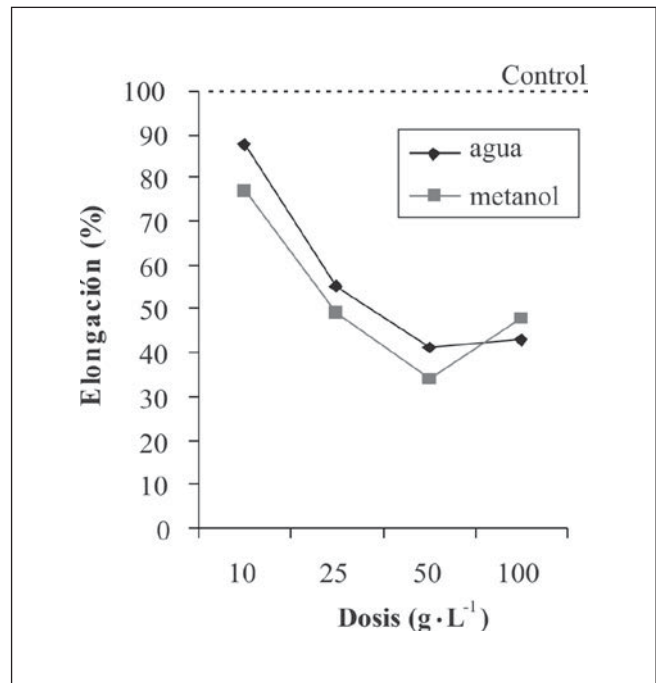


Figura 2. Porcentaje de elongación con respecto al control de la raíz de plántulas de tomate, *Lycopersicon esculentum*, utilizando agua y metanol como solventes de extractos foliares de *Lolium temulentum*.

Con los extractos de *L. temulentum*, las concentraciones entre 25 y $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ pueden considerarse como las mejores, pues permiten alcanzar una reducción de 50% en el crecimiento en longitud de la raíz de tomate. Los compuestos extraídos de las hojas de *L. temulentum* parecen ser más estables en las condiciones evaluadas y, aunque no logran reducciones del crecimiento, con respecto al control, tan altos como en el caso de *B. rapa* (80% vs. 60%), la estabilidad de los compuestos podría ser una fortaleza en el momento de su incorporación en las prácticas agrícolas.

En referencia a la respuesta del tomate a los extractos en los dos solventes escogidos, Kato-Noguchi (2000) encontró, al trabajar con fracciones de *Evolvulus alsinoides* en n-hexano, acetona y agua sobre el crecimiento de *Lactuca sativa*, que la fracción soluble en agua fue la que mayor efecto tuvo sobre el crecimiento, con una I_{25} (dosis

que reduce el crecimiento en un 50%, equivalente a DC_{50} de $0,01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, frente a $0,14$ y $0,032 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ para las fracciones en acetona y n-hexano, respectivamente. Adicionalmente, Inderjit y Dakshini (1994 y 1995) sugieren que, en términos de la importancia ecológica de los compuestos involucrados en la interferencia alelopática, es deseable que ellos sean solubles en agua, por tratarse de un solvente común e inocuo ambientalmente.

El porcentaje de germinación (tabla 1) no fue una variable importante para evaluar el efecto de los extractos, puesto que los valores obtenidos en todos los casos fueron de 100%, sugiriendo, en el caso de *L. esculentum*, que no tienen efecto sobre los procesos relacionados con la germinación y que esa respuesta podría asumirse como igual para otro tipo de semillas, dada la susceptibilidad de esta especie a variaciones en el medio de germinación. De igual manera, el pH no tuvo variaciones importantes por causa de las sustancias evaluadas, manteniéndose entre 6 y 7 unidades, valores considerados dentro del rango óptimo de pH para la germinación y el crecimiento de plantas (Macías *et al.*, 2000).

Tabla 1. DC_{50} para los extractos acuosos y metanólicos de *Brassica campestris subsp. rapa* y *Lolium temulentum* en semillas de tomate *Lycopersicon esculentum*.

Variables	<i>B. campestris subsp. rapa</i>		<i>L. temulentum</i>	
	DC_{50}		DC_{50}	
	Agua	Metanol	Agua	Metanol
Germinación (%)	100	100	100	100
Longitud de raíz	44,4	-	-	-
% de elongación	14,3	8,9	10,1	-
Longitud brote aéreo	-	49,5	210	-
% de elongación	34,4	8,0	81,3	-

DC_{50} : concentración que reduce el crecimiento en 50%.

El cálculo de la concentración DC_{50} no fue posible para todas las variables (tabla 1); las DC_{50} del extracto acuoso de *B. campestris subsp. rapa* para las longitudes de la raíz y el brote aéreo no se obtuvieron, pero sí las de los extractos en agua y metanol para los porcentajes de elongación, $14,3$ y $8,9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. Para los datos de longitud del brote aéreo, se pudo determinar la concentración del extracto de *B. campestris subsp. rapa* en agua y metanol que produce 50% de inhibición en la elongación ($34,4$ y $8,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente).

Para los extractos de *L. temulentum*, a pesar de su actividad inhibitoria del crecimiento con respecto al testigo

(figura 2), no se pudo calcular la DC_{50} en los dos solventes (tabla 1), lo que puede deberse a la presencia de datos tanto para inhibición como para estímulo del crecimiento; es posible que, si se obvian esos datos, pueda encontrarse un valor de DC_{50} , pero no correspondería a la realidad experimental.

Los resultados de estas concentraciones muestran que, si bien pueden definirse comportamientos de los extractos en sus respectivos solventes, resulta complejo ajustar los datos para hacer cálculos de estas concentraciones. Esto puede estar relacionado con el hecho de que los cálculos de concentración DC_{50} se han desarrollado para compuestos que producen un solo tipo de respuesta en las plantas, como es el caso de los herbicidas.

Los resultados expuestos en este trabajo sugieren que los efectos de los extractos de *B. campestris subsp. rapa* y de *L. temulentum* pueden verificarse con la variable longitud, pues pudo ajustarse con el modelo log-logístico. Esto coincide con lo que reportan Macías *et al.* (2000), quienes evaluaron efectos de algunos herbicidas comerciales sobre semillas de hortalizas, con el fin de estandarizar metodologías para evaluación de aleloquímicos en bioensayos y concluyeron que la longitud de raíces es una de las mejores variables para evaluar la actividad de un compuesto, por los menores valores de la desviación estándar en semillas pequeñas, como las de tomate.

Con los resultados obtenidos bajo las concentraciones evaluadas en *L. esculentum*, se sugiere que con otras especies de hortalizas, usadas comúnmente en ensayos de alelopatía, y con especies de malezas se emplee en los ensayos un rango de concentración un poco más amplio, por debajo de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, y menos espaciado entre 10 y $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, con el fin de observar mejor el comportamiento de las variables y definir si el rango de estímulo de algunos de los extractos se encuentra por debajo de $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Literatura citada

- Butgko, V.M. y R.J. Jensen. 2002. Evidence of tissue-specific allelopathic activity in *Euthamia graminifolia* and *Solidago canadensis* (Asteraceae). Amer. Midland Naturalist 148 (2), 253-262.
- Carpentier, N., S. Bostyn y J.P. Coïc. 1998. Isolation of a rich glucosinolate fraction by liquid chromatography from an aqueous extract obtained by leaching dehulled rapeseed meal (*Brassica napus L.*). Ind. Crops Prod. 8, 151-158.
- Choesin, D.N. y R.E.J. Boerner. 1991. Allyl isothiocyanate release and the allelopathic potential of *Brassica napus* (Brassicaceae). Amer. J. Bot. 78(8), 1083-1090.

- Hartley, R.D., R.W. Frederick y P.J. Harris. 1988. 4,4' Dihydroxytruxillic acid as a component of cell walls of *Lolium multiflorum*. *Phytochem.* 27 (2), 349-357.
- Inderjit y K.M.M. Dakshini. 1994. Allelopathic effect of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) on characteristics of four soils and tomato and mustard growth. *Amer. J. Bot.* 81(7), 799-804.
- Inderjit y K.M.M. Dakshini. 1995. On laboratory bioassays in allelopathy. *Bot. Rev.* 61(1), 28-44.
- Kato-Noguchi, H. 2000. Assessment of the allelopathic potential of extracts of *Evolvulus alsinoides*. *Weed Res.* 40, 343-350.
- Kremer, R.J. 2000. Growth suppression of annual weeds by deleterious rhizobacteria integrated with cover crops. pp. 931-940. En: Spencer, N.R. (ed.). *Proc. X International symposium on biological control of weeds.* July 4-14, 1999. Montana State University, Bozeman, MT.
- Liebman, M. y T. Ohno. 1998. Crop rotation and legume residue effects on weed emergence and growth: applications for weed management. pp.181-221. En: Hatfield, J.L., D.O. Buhler y B.A. Stewart (eds.). *Integrated weed and soil management.* Ann Arbor Press, Michigan.
- Macías, F.A., D. Castellano y J.M.G. Molinillo. 2000. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target specie. *J. Agr. Food Chem.* 48, 2512-2521.
- Seefeldt, S.S., J.E. Jensen y E.P. Fuerst. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technol.* 9, 218-227.
- Tukey, H.B. Jr. 1966. Leaching of metabolites from above ground plant part and its implications. *Bul. Torrey Bot. Club* 93, 385-401.