UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

# EFECTO ALELOPATICO DE Gliricidia Sepium

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADA EN BIOLOGIA

IVETTE INOSTROZA SOTOMAYOR

CIUDAD UNIVERSITARIA "RODRIGO FACIO"

1981

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

# EFECTO ALELOPATICO DE Gliricidia Sepium

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADA EN BIOLOGIA**

IVETTE INOSTROZA SOTOMAYOR

CIUDAD UNIVERSITARIA "RODRIGO FACIO"

1981

Efecto alelopático en *Gliricidia sepium*

Tesis presentada a la Escuela de Biología

Universidad de Costa Rica

**APROBADA**

Luis A. Fournier O., Ph.D. — Director de Tesis

Eduardo Jiménez S., Ph.D. — Miembro del Tribunal

Maryssia Nassar C., Lic. — Miembro del Tribunal

María Eugenia Herrera P., Lic. — Miembro del Tribunal

Eugenia Ma. Flores V., Ph.D. — Miembro del Tribunal

Ivette Inostroza Sotomayor — Sustentante

## DEDICATORIA

A mi hijo, Gonzalo Ramón.

## AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo fue posible gracias a la generosa disposición de quienes contribuyeron con su valiosa asistencia, a materializarlo. Sin la sabia orientación del Dr. Luis A. Fournier O., hubiera sido imposible alcanzar los objetivos propuestos. Del mismo modo, la contribución del Dr. Eduardo Jiménez S., la Lic. Maryssia Nassar C., la Lic. María Eugenia Herrera P., y el Lic. Francisco Cicció A., me hacen acreedora de una deuda de gratitud que nunca podré satisfacer.

## LISTA DE FIGURAS


| Figura N° | | Página |
|---|---|---|
| 1 | Germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de hojas de *Gliricidia sepium* en diferentes concentraciones..... | 24 |
| 2 | Efecto del lavado sobre semillas de *Bidens pilosa*..... | 24 |
| 3 | Germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de diferentes partes vegetativas de *Gliricidia sepium*..... | 25 |
| 4 | Germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de diferentes partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium*..... | 26 |
| 5 | Germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de diferentes partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium*..... | 27 |
| 6 | Germinación de semillas de *Gliricidia sepium* en agua y en extractos de hojas nuevas de la misma planta..... | 28 |
| 7 | Germinación de semillas de *Bidens pilosa* en agua y junto con semillas de *Gliricidia sepium*..... | 28 |
| 8 | Germinación de semillas de *Lycopersicon esculentum* en extractos de hojas de *Gliricidia sepium*..... | 29 |
| 9 | Peso húmedo de radícula de *Lycopersicon esculentum* con diversas concentraciones de extracto de hojas de *Gliricidia sepium*..... | 29 |

*CONTENIDO*


| | Página N° |
|---|---|
| Miembros del Tribunal | i |
| Dedicatoria | ii |
| Agradecimiento | iii |
| Lista de Figuras | iv |
| Contenido | v |
| INTRODUCCION | 1 |
| REVISION DE LITERATURA | 3 |
| Consideraciones Generales | 3 |
| Importancia en el manejo de ecosistemas | 5 |
| Agricultura | 5 |
| Silvicultura | 10 |
| Patología vegetal | 13 |
| Importancia en ecosistemas naturales | 15 |
| Importancia en la sucesión | 16 |
| Naturaleza química de las sustancias alelopáticas | 17 |
| Factores que afectan la producción de compuestos alelopáticos | 18 |
| Mecanismos de acción | 18 |
| MATERIALES Y METODOS | 21 |
| RESULTADOS | 30 |
| DISCUSION | 33 |
| CONCLUSIONES | 40 |
| RESUMEN | 41 |
| LITERATURA CITADA | 42 |

# INTRODUCCION

En la actualidad, uno de los aspectos de mayor importancia dentro de la agricultura, es aumentar los niveles de producción para satisfacer las necesidades alimentarias de una población creciente. Con este fin, se ha desarrollado toda una tecnología para fabricar máquinas cada vez más complejas que aran, siembran, cortan y cosechan los cultivos en forma insuperable, al mismo tiempo que la intervención de la química ha facilitado el uso de fertilizantes, fungicidas, herbicidas y sustancias contra todo tipo de plagas, enfermedades y malas hierbas. Lamentablemente, el hombre ha abusado de esta tecnología poniendo en peligro el equilibrio ecológico propio de cada rincón de nuestro planeta.

La poca previsión lo ha hecho destruir bosques sin reemplazarlos produciendo una cadena de alteraciones que comienzan con la deforestación, la sequía, la erosión y el exterminio de algunas especies, hasta llegar a producir cambios en el microclima.

En alguna medida, estos problemas han estimulado a un mayor estudio y análisis de las relaciones que existen entre los componentes de un ecosistema, aspecto complejo y de múltiples facetas, puesto que cada comunidad tiene sus características propias de suelo, microclima y biota. Dentro de la interacción que se produce entre las especies interviene la competencia, que tiende a eliminar algunas plantas, en forma similar a lo que ocurre entre los microorganismos (Anaya y Gómez-Pompa, 1971).

Existe, además, otro aspecto que ha despertado el interés de los investigadores y que ha motivado la realización de este trabajo; es el estudio

del fenómeno que se designa como alelopatía.

Se llama alelopatía a la inhibición que ejerce una especie sobre la germinación o el crecimiento de otra, mediante compuestos químicos liberados a través de diferentes partes de la planta inhibidora. Se considera tan importante el fenómeno alelopático, que se han realizado estudios donde se demuestra que la densidad, regulación de especies y sucesión en una comunidad, son el resultado de su acción (Jackson y Willemsen, 1976; Putnam y Duke, 1974; Whittaker y Feeny, 1971). La trascendencia que esto tiene, significa que se estudien con mayor amplitud las especies económicamente significativas, tratando de detectar aquellas que inhiben su crecimiento para eliminarlas o, en otros casos para usarlas como un control natural de malezas que no haga necesaria la administración de compuestos químicos que alteren la ecología de la comunidad (Putnam y Duke, 1974).

En el presente trabajo se estudió el efecto alelopático de *Gliricidia sepium* (Madero negro) sobre algunas especies, considerando que es un árbol que se utiliza en muchos países tropicales para producir sombra en algunas plantaciones de café y cacao, así como en cercas vivas y potreros.

# REVISION DE LITERATURA

## Consideraciones generales.

Se denomina alelopatía al fenómeno mediante el cual una planta actúa sobre otra inhibiendo la germinación de sus semillas o su crecimiento. Esta acción se realiza por contacto de las sustancias químicas producidas por la planta con la o las plantas que sufren la inhibición (Fisher, 1980; Gant y Clebsch, 1975; Lines y Fournier, 1979; Lodhi, 1978).

Existen diversas formas de liberación de sustancias alelopáticas al medio:

1. Las hojas y pequeños trozos de ramas de la planta productora de sustancias alelopáticas caen a la tierra y son descompuestas por microorganismos que liberan sustancias químicas que pueden actuar directa o indirectamente sobre otras plantas (Van der Valk y Davis, 1976).
2. Algunos compuestos volátiles son liberados al ambiente con la posibilidad de actuar especialmente sobre el crecimiento de la vegetación circundante.
3. Las raíces entregan al medio exudados que pueden ser absorbidos por las raíces de otras plantas o actuar directamente sobre las semillas.

Hay estudios que demuestran que la inhibición es mayor cuando la sustancia es liberada por una raíz viva, disminuyendo en caso de raíces destruidas. Para algunos investigadores esto puede significar que la sustancia es un producto propio de la dinámica del metabolismo, característica que se pierde al no haber vida (Overland, 1966).

4. Gran cantidad de compuestos orgánicos e inorgánicos son arrastrados por el agua de lluvia o rocío que los solubiliza y lleva desde las hojas hasta el suelo (Tukey, 1969).

Existen dos posibilidades de explicación del origen de las sustancias alelopáticas: la primera, que sean un producto normal del metabolismo del vegetal, de modo que al ser excretadas no la autointoxiquen. La segunda posibilidad establece que su producción sea el resultado de un mecanismo evolutivo de la planta, que le permitió la supervivencia frente al resto (Anaya y Gómez-Pompa, 1971).

La investigación en torno a alelopatía ha aumentado en los últimos años. Rice (1979) indica que el primero en interesarse sobre el fenómeno fue De Candolle en 1832, quien propuso que la causa del debilitamiento de las tierras cultivadas se debía a la producción de sustancias de los propios cultivos. Surgió así la idea de rotación de cultivos.

A continuación se inició una serie de investigaciones que estudiaron e identificaron el fenómeno. Molish, en 1977 publicó un artículo clásico en el tema (Rice, 1979). El estudio de este fenómeno despertó gran interés en los investigadores a partir de 1960 (Overland, 1966; Rice, 1967, 1974, 1977; Webb y Tracy, 1967; Carley y Watson, 1968; Muller, 1969, 1970a, 1970b). De 1970 en adelante aumentó el número de artículos y es posible encontrar en ellos una orientación que los ubica en determinados campos específicos como silvicultura, horticultura, fitopatología, etc. Rice (1979) menciona el análisis que realizó,en un primer libro, publicado en 1974,acerca de los estudios más relevantes hasta el año 1973 y del mismo modo hizo con las in-

vestigaciones realizadas desde 1973 hasta 1978 (Rice, 1979).

Importancia en el manejo de ecosistemas:

Agricultura.

Existen plantas de importancia en la producción directa de alimento, como son las gramíneas que constituyen para muchos países su producto de mayor importancia económica.

Entre ellas se ha detectado que hay algunas especies que producen gran cantidad de sustancias alelopáticas y que pueden utilizarse como una forma de control de malezas (Fisher, 1980). Esto se ha observado en cebada (*Hordeum vulgare L.*), centeno (*Secale cereale L.*), Sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.) y *Fagopyrum esculentum* Moench. Las sustancias producidas actúan inhibiendo la germinación de semillas y el crecimiento de algunas especies de plantas; incluso, en condiciones experimentales en que se ha eliminado la competencia. Overland (1966) hizo actuar cebada sobre plantas de *Stellaria media*, *Capsella bursa pastoris*, *Nicotiana tabacum* y *Triticum aestivum*, y obtuvo una gran inhibición en *Stellaria*, menor en *Capsella bursa pastoris* y *Nicotiana tabacum* y sin significación en *Triticum aestivum*. La inhibición sobre *Stellaria media* se producía aunque se agregaron nutrientes al cultivo. El principio que produce la inhibición es un alcaloide que, supone el autor, no es tan eficaz en trigo porque en gran medida la cebada y el trigo crecían juntos en cultivos primitivos. Esto sugiere mecanismos de evolución adaptativa que han permitido al trigo desarrollarse normalmente junto a la cebada (Overland, 1966; Rice, 1979).

También hay casos de autotoxicidad, como sucede con el trébol rojo (*Trifolium pratense L.*), que fue estudiada por Tamura et al. (1967, 1969), citado por Rice (1979), quienes al identificar químicamente el inhibidor, encontraron nueve compuestos del grupo de los flavonoides. Después de laboriosas pruebas en que también intervinieron otros investigadores se concluyó que los flavonoides se descomponían dando origen a numerosos compuestos fenólicos que, acumulados en el terreno, producían un alto grado de inhibición en diversas especies, además del trébol rojo (Rice, 1979; Whittaker y Feeny, 1971).

El cultivo del arroz se ha estudiado cuidadosamente y se ha establecido que el ácido cinámico inhibe el crecimiento de las plántulas de arroz aunque se encuentre en concentraciones muy bajas. Además, se descubrió que los restos de las mismas plantas de arroz que usualmente se mezclaban con el terreno, al descomponerse inhibían el crecimiento de la radícula del arroz, de la radícula de lechuga y de la planta de arroz (Rice, 1979).

También se ha observado que el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa*), ajo (*Allium cepa*) y crisantemo (*Chrisanthemum hortum*), entre otras especies, eran afectadas por sustancias producidas por *Kalanchoe daigremontiana* que, a través de exudados de su amplia raíz y hojas, afectaba el crecimiento de las especies nombradas (Groner, 1974; 1975).

Con el trigo se llegó a conclusiones semejantes a las del arroz; la mezcla del terreno con la paja de la cosecha realizada interfería, también, en la producción siguiente a los primeros cultivos. Se descubrió que el terreno con restos de la planta contenía sales de ácido acético, butírico y

propiónico; además, trazas de ácidos isobutíricos, pentanoico e isopentanoico, y que su producción creciente era paralela a la toxicidad de los extractos en plántulas de trigo (Rice, 1979).

Carley y Watson (1968), comprobaron que extractos obtenidos de 23 especies inhibieron la germinación de semillas de trébol, lechuga, rábano y trigo. Fueron especialmente tóxicos los extractos de papa, remolacha azucarera, soya, alfalfa, pera y frijol. En la preparación de los extractos se usaron hojas, tallos, frutos de cada especie y, en algunos casos además, semillas.

El maíz (*Zea mays*) también produce residuos que inhiben el crecimiento de plántulas de trigo, fenómeno estudiado ampliamente hasta determinar un margen de 22 semanas de mayor acción de las sutancias inhibidoras debido a que la descomposición de los restos demora aproximadamente ese tiempo en completarse. Se logró identificar 18 compuestos en los residuos del terreno entre los cuales están: salicil aldehído, resorcinol, fluoroglucinol, p-hidroxibenzaldehído y ácidos vainíllico, ferúlico, o-cumárico, transcinámico y cafeico (Rice, 1979).

El centeno (*Secale cereale L.*), tiene una gran cantidad de agentes inhibidores que afectan a las plántulas de tabaco; y en trabajos realizados por diversos investigadores, se determinó la presencia de los ácidos vainíllico, ferúlico, fenil acético, 4 fenil butírico, p-cumárico, p-hidroxibenzoico, salicílico, o-cumárico y salicil aldehído.

En sorgo (*Sorghum vulgare*), se determinó que la raíz liberaba grandes cantidades de ácido o-hidroxibenzoico, m-hidroxibenzoico y ácido protocatéquico que no eran eliminados por la microflora del terreno y, por lo tanto, ejercían su acción inhibidora (Rice, 1979).

Por otra parte, se ha podido diferenciar la acción fitotóxica que algunas malezas tienen sobre otros cultivos.

Una investigación realizada en Brasil indicó que *Calea cuneifolia D.C.* es una hierba común cuyos extractos de hojas inhiben la germinación del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y de *Mellinis minutiflora* Beauv., que es una planta forrajera (Coutinho y Hashimoto, 1971).

Otros trabajos determinaron que hojas y frutos de una hierba (*Schinus molle L.*) impedían la germinación y el crecimiento de plántulas de pepino (*Cucumis sativas L.*) y del trigo (Anaya y Gómez-Pompa, 1971).

Varias especies de la familia Ericaceae producen inhibición en los cultivos de algunas regiones de España. Al analizarlas se encontró orcinol y orcinol glucósido, compuestos fenólicos que también se descubrieron en los terrenos que se estudiaban.

Los extractos de hojas de *Rumex crispus L.* inhiben la germinación de semillas de maíz y del grano de sorgo; se identificaron tres toxinas que bloquean la germinación de semillas de rábano y sorgo.

Otra maleza, *Cyperus esculenteus Ten.* var aureus Richt., impide que los cultivos de maíz se desarrollen normalmente. Se identificaron varias toxi

nas del grupo de los ácidos fenólicos.

En la India, *Digera arvensis* Forsko, una maleza muy común, produce sustancias alelopáticas que inhiben la germinación de semillas y el crecimiento de la radícula de una importante planta de la región: *Penisetum typhoides* Stapf y Hubb.

La maleza *Cirsium arvense L.* Scop afecta la germinación de *Trifolium subterraneum L.* y de sus propias semillas. Además, las plántulas de *Lolium perenne*, *T. subterraneum* y *Hordeum distichon L.* (Rice, 1979).

Es difícil enumerar todos los trabajos que se han realizado en diversas partes del mundo respecto a la acción alelopática de las malezas. Conviene destacar que el problema ha estimulado a investigadores de diversos países para su estudio, y hay trabajos de Tasmania, Nueva Zelandia y Canadá, entre los más distantes, que han aportado importantes conclusiones.

También hay investigaciones sobre acción alelopática de cultivos sobre malezas.

Algunas descubrieron que *Festuca arundinacea* Schreb. produce inhibidores que libera por la raíz y bloquean el crecimiento de *Brasica nigra L. Koch.* y *Lotus corniculatus*, *Lupinus albus L.* y *Zea mays* (maíz) mediante exudados de sus raíces, inhiben el crecimiento de *Erysimum cheiranthoides L.*, y el trigo, centeno y cebada inhiben *Sinapis arvensis L.* (Rice, 1979).

El análisis de todas estas investigaciones en torno a alelopatía en cultivos usuales en la actualidad, hace posible una racionalización que permita obtener el mayor rendimiento, con la mínima contaminación del terreno con fitotoxinas.

Putnam y Duke (1974) concluyeron, en una investigación hecha en *Cucumis sativus L.*, que sería ventajoso para algunas especies cultivables, la incorporación de un caracter alelopático que podría facilitarles la competencia frente a ciertas malezas poderosas. De este modo sería fácil utilizar estas especies como control de malezas, ya que estarían actuando como herbicidas naturales.

Silvicultura:

Rice (1979), hace una detallada revisión de los árboles que afectan alelopáticamente a algunas plantas. Da cuenta de una investigación de Peterson (1965), en la que *Kalmia angustifolia L.* afecta el crecimiento de otras plantas destruyendo las células epidérmicas y corticales.

Mc Pherson y Thompson (1972), citado por Rice (1979), demostraron que dos especies de *Quercus*, *Q. stellata wang* y *Q. marilandica* Muench., suprimen la vegetación a su alrededor, lo que puede explicarse mediante la competencia de sus raíces con las de otras plantas, o por la liberación de sustancias alelopáticas de la raíz que son solubles en agua, lo que facilita su acción.

También Rice (1979), cita a Peterson (1972), quien determinó que *Juniperus scopulorum* Sarg. produce inhibidores volátiles y solubles en agua que

reducen la germinación de varias especies herbáceas.

Por otra parte, Baranetsky (1973), citado por Rice (1979), determinó que hojas caídas de *Fraxinus excelsior L.* inhibían a varias plantas, del mismo modo que *Tilia cordata* Mill.

Se detectó que el suelo donde se produce *Celtis laevignata*, contiene gran cantidad de principios alelopáticos que impiden el crecimiento de hierbas. Se identificaron ácidos cafeico, ferúlico y p. cumárico (Lodhi, 1975). También se observó que *Platanus occidentalis*, *Quercus alba L.*, *Quercus borealis* Michx y *Ulmus americana L.*, liberaban fitotoxinas que reducían las hierbas a su alrededor (Lodhi, 1976; Fisher, 1980).

Diversas especies de *Eucalyptus* también presentaron liberación de sustancias alelopáticas, identificándose algunos inhibidores volátiles como pineno, alcanfor, cineol y compuestos solubles en agua como los ácidos clorogénico, isoclorogénico, ferúlico, p-cumárico y cafeico. Estos compuestos fueron detectados en las hojas (Del Moral y Muller, 1970; Fisher, 1980; Rice, 1979). El nogal (*Juglans nigra*), es uno de los árboles que presenta en mayor grado producción de inhibidores alelopáticos. Le siguen en intensidad *Juniperus* y *Pinus* (Fisher, 1980).

En *Cupressus lusitanica* Mill. se determinó la presencia de un complejo inhibidor que se extrajo de partes vegetativas y reproductivas de la planta. Su acción se estudió poniendo en contacto semillas de algunas hierbas con los extractos y analizando la germinación durante un período determinado. Se observó una gran inhibición de la germinación con varia-

ciones según la concentración del extracto. Esto puede tener aplicaciones mediante el uso del ciprés como herbicida natural o cuidando de usarlo en reforestación por su influencia inhibidora en la formación de sotobosque (Lines, 1977).

La acción alelopática también se ha encontrado en hierbas que pueden inhibir el crecimiento de otras hierbas, además de árboles. Esto sucede con *Hieracium aurantiacum L.*, que mantiene libre de árboles el lugar donde se produce. Con *Heracleum laciniatum*, por otra parte, se concluyó que inhibe la germinación de semillas de *Salix pentaedra L.* y también las semillas de rábano. *Dauthonia compressa* Aust. produce una disminución en el crecimiento de *Prunus serotine* Ehrh., lo mismo que *Solidago rugosa* Ait., y *Aster umbellantus* Mill. Otra hierba muy difundida, *Andropogon virginicus*, inhibe el crecimiento de *Pinnus taeda L.*mediante la producción de ácidos vainíllico, m-cumárico y m-hidroxifenil propiónico )Rice, 1979).

Los helechos también presentan alelopatía y la mayoría de las investigaciones se han hecho con *Pteridium aquilinum*. La producción de inhibidores mantiene el terreno donde hay helechos, casi sin arbustos. Una particularidad en helechos es que los gametofitos pueden ser inhibidos por los esporofitos, como sucede con *Thelypteris normalis* (Rice, 1979).

Las micorrizas pueden recibir la acción alelopática de otras plantas; uno de los casos más destacados es la inhibición que *Populus trémula L.* ejerce sobre el hongo microrrízico *Boletus*. Las sutancias inhibidoras se identificaron como catecol y ácido benzoico. Los antibióticos producidos por los hongos también bloquean el crecimiento de varios hongos aislados de restos de hojas de *Shorea robusta* Gaertn (Rice, 1979).

Patología vegetal:

En el ámbito de la patología vegetal interviene ampliamente la alelopatía, pues el desarrollo de patógenos, el antagonismo de patógenos por organismos no hospederos, el desarrollo de síntomas de enfermedades y la resistencia de huéspedes a determinados patógenos, llevan consigo la intervención de sustancias alelopáticas.

La interacción entre las fitoalexinas producidas por el huésped y las fitotoxinas producidas por el patógeno afecta al huésped de diferentes maneras, que se sintentizan a continuación:

Hay gran cantidad de hongos parásitos que producen una masa de esporas que permanece en estado latente hasta que la dispersión les asegure un medio adecuado. El estado de latencia se debe a la producción de agentes inhibidores producidos por las mismas esporas que, al encontrarse en el ambiente propicio, producen estimuladores de la germinación que contrarrestan a las primeras sustancias (Rice, 1979).

Además se detectó que compuestos volátiles liberados de plántulas de cebolla y puerros producían la germinación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk., y que la respuesta de las zoosporas de *Phytophthora cinnamomi* Rands. se suprimía con etanol (Rice, 1979). Esto último explica en buena parte los resultados obtenidos por Maia y Jiménez (1966), quienes demostraron que los polifenoles presentes en el epicarpio del fruto de cacao *Theobroma cacao*, son los que inhiben el desarrollo de *Phytophthora palmivora*, dependiendo la intensidad del efecto, de la naturaleza de la sustancia polifenólica. Estos autores señalan la importancia de esta interacción como un método para seleccionar variedades de cacao resistentes a la pudrición negra.

En el caso de *Plasmodiophora brassicae*, el aceite de mostaza alil isotiocianato estimula la germinación de sus esporas (Whittaker y Feeny, 1971; Rice, 1979).

Esta influencia en la formación de hongos, puede explicarse porque estos parásitos tienen un período importante de su ciclo de vida separados de la planta huésped, y puede ser por esto que la formación de esclerocios y clamidósporas está influenciada en esos casos por la presencia de agentes alelopáticos (Rice, 1979).

Se considera la producción de antibiótico como un mecanismo antagónico de algunos patógenos a organismos no huéspedes y a la liberación de compuestos químicos de plantas superiores, en muchos casos, como una respuesta. Esta interacción puede no ser detectable en forma clara y fácil debido al complejo ecosistema del suelo y a las concentraciones que se producen en él (Whittaker y Feeny, 1971; Rice, 1979).

En el caso de enfermedades virales, puede ser que no se reconozcan síntomas, como sucede en plantas muy jóvenes, pero ciertas combinaciones de clima, cultivo y estado de desarrollo, pueden hacer que la enfermedad cause verdaderos estragos en algún cultivo.

Este problema se produjo en la industria del crisantemo. Un virus que no producía síntomas visibles de la enfermedad, contaminó las plantas que se usaban para la reproducción con cortes de tallo. La enfermedad se propagó y no se hizo detectable hasta que las nuevas plantas estaban cercanas a la floración. El desastre en la producción fue total. Para eliminar la

enfermedad fue necesario encontrar un método para descubrir el virus; para esto se usó el crisantemo variedad Blanche que era muy sensible a la enfermedad y desarrollaba síntomas fácilmente visibles. Se utilizó como indicador dentro del cultivo, de modo que se podían separar fácilmente las plantas enfermas de las sanas (Tukey, 1969; Rice, 1979).

De este modo se utilizó una forma de alelopatía para la prevención de una enfermedad, lo que significó el comienzo de la utilización de "plantas indicadoras" en control de enfermedades.

Debe destacarse la importancia que tiene la alelopatía en el comportamiento de las algas. Las variaciones del fitoplancton son un ejemplo de la influencia de algunas algas que pueden inhibir a ciertas especies y no actuar sobre otras. Una diatomea, *Asterionella japonica* Cleve produce antibióticos antibacterianos, un alga, *Phaeocystis poucheti* (Hariot) Lagerh., libera ácido acrílico y actúa como compuesto antibacteriano de organismos Gram positivos y Gram negativos. Puede suceder que algunas algas actúen sobre otras algas y también que actúen sobre zooplancton (Rice, 1979).

Importancia en ecosistemas naturales:

Una de las formas en que actúa la alelopatía en ecosistemas naturales consiste en el establecimiento de patrones de vegetación. Este concepto se refiere a la distribución espacial de organismos dentro de una comunidad. El término se usa ampliamente para referirse a arreglos espaciales de especies que son visibles en el terreno, como son las áreas desnudas bajo determinadas especies de árboles (Rice, 1979).

En algunos casos influye la estación para que se produzca el lavado necesario para arrastrar las sustancias alelopáticas al suelo cuando las semillas de la planta inhibida estén prontas a germinar.

Se puede determinar la influencia de árboles, arbustos e hierbas, como se estudió en la distribución del árbol *Arenaria patula* que es influída por *Petalostemon gattingeri;* asimismo, en cuanto a arbustos, la gran inhibición producida al sur de California con *Adenostoma fasciculatum* Schneid. Entre las hierbas, hay numerosos casos como, algunas hierbas subtropicales que presentan liberación de fitotoxinas; entre ellas se encuentran *Acrocercas macrum* Stapf., *Andropogon nodosus* (Willem) Nash, etc. (Lodhi, 1970; 1975; 1978; Rice, 1979).

Importancia de la sucesión:

El amplio ámbito de acción de la alelopatía permite comprender que su influencia es decisiva en la sucesión. Las investigaciones sobre este aspecto son numerosas (Neill y Rice, 1971); Del Moral y Cates (1971), investigaron la vegetación dominante hacia el oeste de Washington y encontraron que el 23% de las especies investigadas tiene un potencial alelopático definido en esta región. Además, que los componentes volátiles son proporcionalmente más comunes en las especies que se estudiaron que los compuestos solubles en agua. Postulan los autores que la selección natural ha actuado favoreciendo la producción de sustancias en formas que se puedan movilizar con facilidad.

El Oeste de Oregon también fue investigado por Anderson (1969), quien estudió la distribución de *Acer circinatum*, que se considera una importante especie ornamental a causa del brillante colorido de su follaje en otoño. Además, tiene influencia en el control de la regeneración de conffe-ras. La investigación descubrió la gran acción de esta especie sobre las hierbas y matorrales de la comunidad.

Rice (1972), ha hecho un detallado estudio sobre las variaciones que se producen en un terreno con respecto a las diferentes concentraciones de fijación del nitrógeno producida por acción de distintas especies, en épocas también distintas, sobre las bacterias nitrificadoras, de tal manera que la alelopatía indirecta que así se manifiesta, permite reconocer etapas en la sucesión de campos de Oklahoma. Primero hay una gran cantidad de malezas, enseguida hierbas anuales, posteriormente agrupaciones de pasto perenne y finalmente pradera (Leuck II y Rice, 1976; Lines, 1977).

En algunos casos las propias plantas inhibidoras son autotóxicas, como una forma de controlar su propia población, actuando sobre sus plántu - las o cediendo el espacio a especies nuevas (Coutinho y Hashimoto, 1971; Neill y Rice, 1971; Whittaker y Feeny, 1971; Bazzaz, 1975; Raynal y Bazzaz, 1975; Gant y Clebsch, 1975; Lodhi, 1975; 1976; Jackson y Willemsen, 1976; Kapustka y Moleski, 1976; Lines y Fournier, 1979).

Naturaleza química de las sustancias alelopáticas:

La identificación de los agentes alelopáticos ha permitido reconocer como compuestos de mayor frecuencia, los alcaloides, antibióticos, fenoles, terpenos, quinonas, flavonoides y taninos. En muchos casos son libe

rados al medio y modificados químicamente a través de las raíces (Bohm, 1967; Lines, 1977; Adams y Hagerman, 1977; Rice, 1979; Bandaranayake, 1980).

Factores que afectan la producción de compuestos alelopáticos:

Experimentalmente se ha logrado obtener fenoles que no se producen en forma natural en algunas raíces y otros que aumentan su cantidad con la exposición de la raíz al etileno. Además, se ha establecido que las variaciones (presencia o deficiencia) de fosfato también influyen en la mayor producción de sustancias alelopáticas. Otro factor importante es la humedad del terreno (Koeppe, Southwick y Bittell, 1976; Rice, 1979).

Mecanismos de acción:

La forma en que actúan las sustancias alelopáticas es diversa. Inhiben la división celular, como sucede en las raíces de pepino con umbeliferona, en que el aumento vertical disminuye por expansión radical. Por otra parte, al exponer estas raíces a la acción de terpenos volátiles de hojas de *Salvia leucophylla* Greene, se produjo en las células del citoplasma la acumulación de glóbulos aparentemente de lípidos y una disminución notable en las organelas, especialmente en mitocondrias. También se observó ruptura de membranas alrededor del núcleo, mitocondrias y dictiosomas. Esta destrucción en los meristemas conduce a la muerte de las plántulas de pepino (Whittaker y Feeny, 1971; Rice, 1979).

Willemsen y Rice (1972), realizaron un trabajo con el que demostraron que las hormonas del crecimiento también son afectadas por las sustancias alelopáticas, especialmente con la acción de fenoles y taninos.

Uno de los síntomas que indican la producción de fitotoxinas en algunos casos, es la variación en la permeabilidad de la membrana celular, lo que altera la entrada de agua y iones a la célula. La absorción mineral en su totalidad se ve afectada y, en especial, la entrada del potasio por acción de ácidos fenólicos (Svejda y Poapst, 1972; Lines, 1977; Rice, 1979).

La fotosíntesis es otro de los procesos que varía con la presencia de polifenoles que inhiben las reacciones fotoquímicas en cloroplastos aislados. Se demostró que los flavonoles inhiben el transporte de electrones y la fotofosforilación cíclica y no cíclica en cloroplastos aislados de *Pisum sativum;* en este caso se llegó a observar una marcada inhibición de la síntesis de ATP. Por lo tanto, puedo inferirse que el compuesto actuaba como un inhibidor de la transferencia de electrones (Rice, 1979).

Otra función destacada que puede ser bloqueada por agentes alelopáticos, es la respiración. Puede suceder que se estimule una etapa o se inhiba otra. Agregando extracto acuoso de *Celtis laevignata* a una solución en la que se mantenían algunas especies de hierbas, se estimuló la producción de $CO_2$; se comprobó que ello dependía de la concentración del extracto.

La síntesis de proteínas y el metabolismo de lípidos y ácidos orgánicos también se ven afectados por las variaciones en la incorporación fotosintética del carbono, lo que explica la posterior inhibición del crecimiento, la germinación y el desarrollo de plántulas (Danks, Fletcher y Rice, 1975).

También puede suceder que los vasos del xilema sufran una especie de endurecimiento y obstrucción por grandes cantidades de pectina, lignina, suberina, melanina y otras sustancias no identificadas. Este complejo tapa las cavidades de los vasos e impregna las paredes dándoles un color oscuro. Se determinó que la responsable de esta anomalía es la acción que algunos agentes alelopáticos producen sobre el ácido ascórbico, el que influye en la formación de las sustancias mencionadas.

Otra característica especial de las sustancias alelopáticas es la capacidad de actuar combinadamente, produciendo un efecto que no se lograría, si los compuestos de la mezcla actuaran en forma independiente. A esta capacidad se le llama efecto sinergístico (Rice, 1979).

La liberación de sustancias aleloquímicas al medio puede sufrir la transformación por hongos propios del suelo,los que a su vez producen toda una gama de compuestos intermedios con características inhibidoras. Sin embargo, en el caso de taninos, sustancias alelopáticas más estables, pueden permanecer en la tierra sin experimentar cambios.

## MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se realizó en los laboratorios de la Escuela de Biología, en la Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio" de la Universidad de Costa Rica, de junio de 1979 a noviembre de 1980.

Las muestras de madero negro, *Gliricidia sepium*, fueron obtenidas en la Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio", con 1200 m de altitud, y en Ciudad Colón, Costa Rica, a 800 m de altitud. Se colectó material tanto en la época seca como en la lluviosa.

Las partes vegetativas y reproductivas de la planta fueron sometidas a extracción acuosa sin maceración y con maceración en otros casos, durante 24 horas, y a proporciones peso fresco de tejido/volumen de solvente previamente establecidas.

Como indicadores de inhibición se emplearon semillas de *Bidens pilosa* (moriseco) y *Lycopersicon esculentum* (tomate). Las semillas, en número de 20-25 y tratadas con Kocide se colocaron en placas de Petri con papel de filtro. Para cada prueba se hicieron 3-4 repeticiones y en cada placa se agregó 2,5 ml de extracto. En todos los casos las placas se mantuvieron en condiciones de laboratorio. Durante el experimento las placas estuvieron colocadas sobre una mesa al fotoperíodo normal.

En el primer experimento, realizado entre junio y agosto de 1979, se emplearon hojas sazonas de madero negro de la Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio". En esta oportunidad se hicieron varios ensayos con extractos normales de hoja y macerados sobre semillas de *Bidens pilosa*. Se emplearon

las siguientes concentraciones de ambos extractos: 0, 100, 300 y 600 gramos de hojas peso fresco por litro de agua.

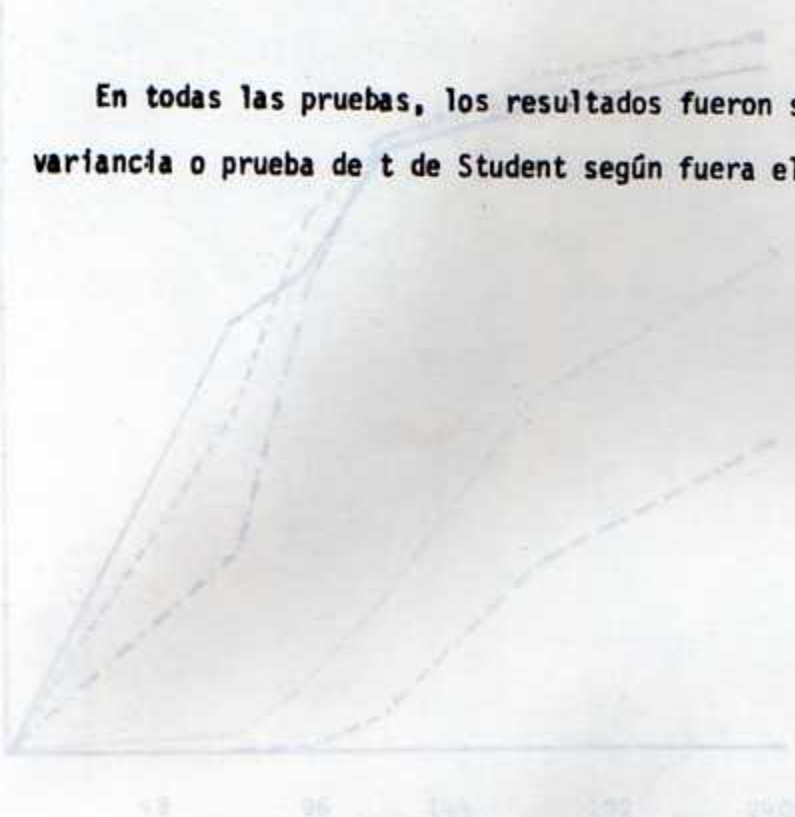
Posteriormente, entre setiembre y octubre de 1979 se llevaron a cabo otras pruebas en las que se emplearon extractos de hojas, corteza de tallo, madera del tallo, corteza de la raíz y madera de la raíz. En esta ocasión también se emplearon semillas de *Bidens pilosa* y una sola concentración del extracto (600 g/l).

Durante los meses de enero a abril de 1980 (estación seca), se realizaron varias pruebas en las que se incluyeron además de las diversas partes vegetativas de madero negro de las que se habían hecho extractos anteriormente, flores, frutos, semillas y hojas nuevas. En todos los casos se empleó material procedente de Ciudad Colón; los extractos fueron con maceración y a una concentración de 600 g/l excepto en un ensayo en que no se usó extracto sino que en cada placa se colocaron 10 semillas de *Gliricidia sepium* rodeando a las de *Bidens pilosa* y se agregaron 2,5 ml de agua.

También se realizó un ensayo para determinar si había efecto "autoalelopático" en el madero negro; con ese fin se emplearon semillas en extracto de hojas de esta planta.

En el mes de octubre de 1980 se realizó una última prueba en la que en lugar de *Bidens pilosa* se empleó tomate (*Lycopersicon esculentum*) como indicador. En esta prueba se emplearon tres concentraciones de extractos por maceración de hojas a 100, 300 y 600 g/l. Para la evaluación de los resultados de este ensayo, además del conteo del número de semillas germinadas, se pesaron sus radículas.

En todas las pruebas, los resultados fueron sometidos a análisis de variancia o prueba de t de Student según fuera el caso.



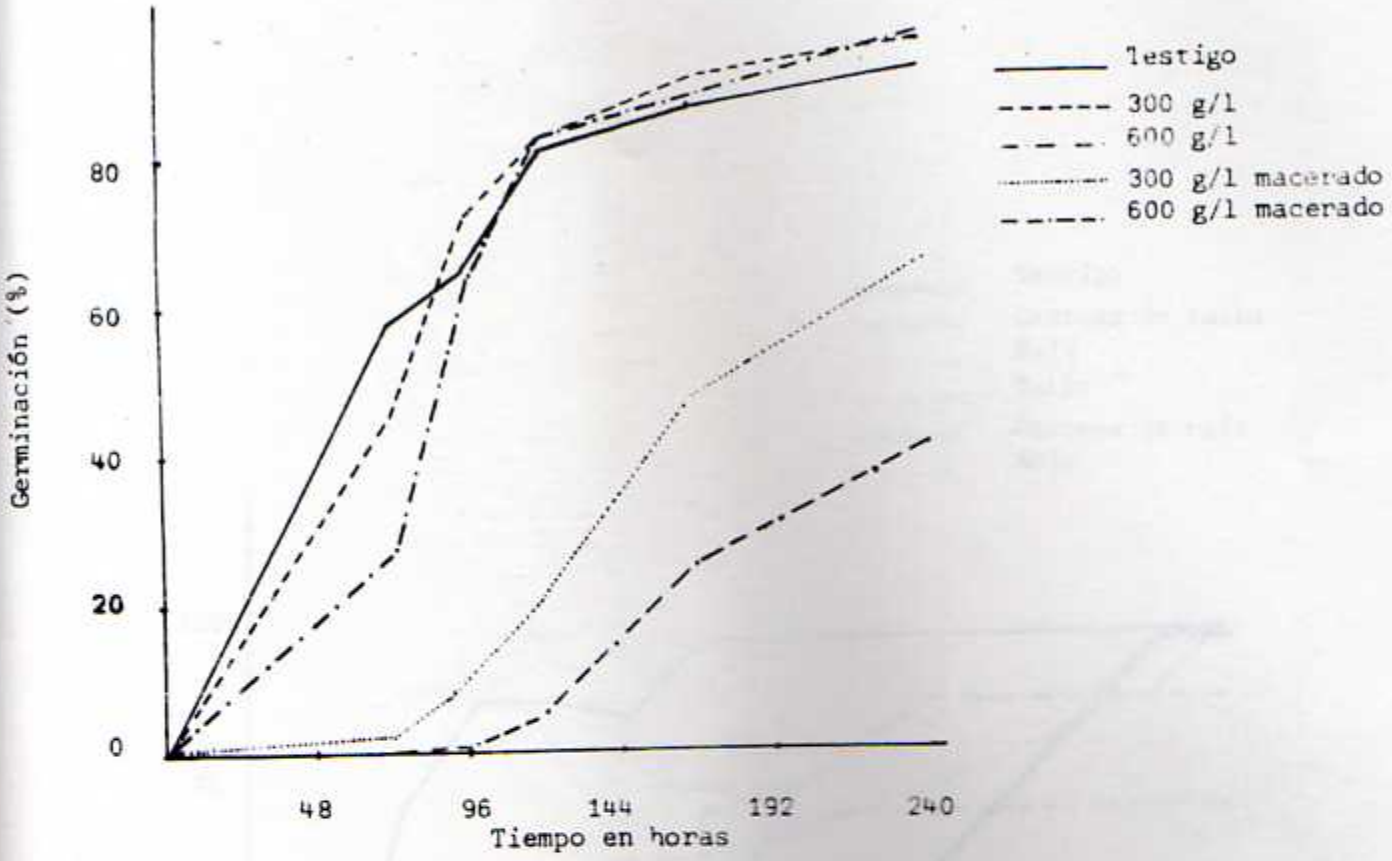



**Fig. 1.** Germinación de semillas de Bidens pilosa en extractos de hojas de Gliricidia sepium de diferentes concentraciones.

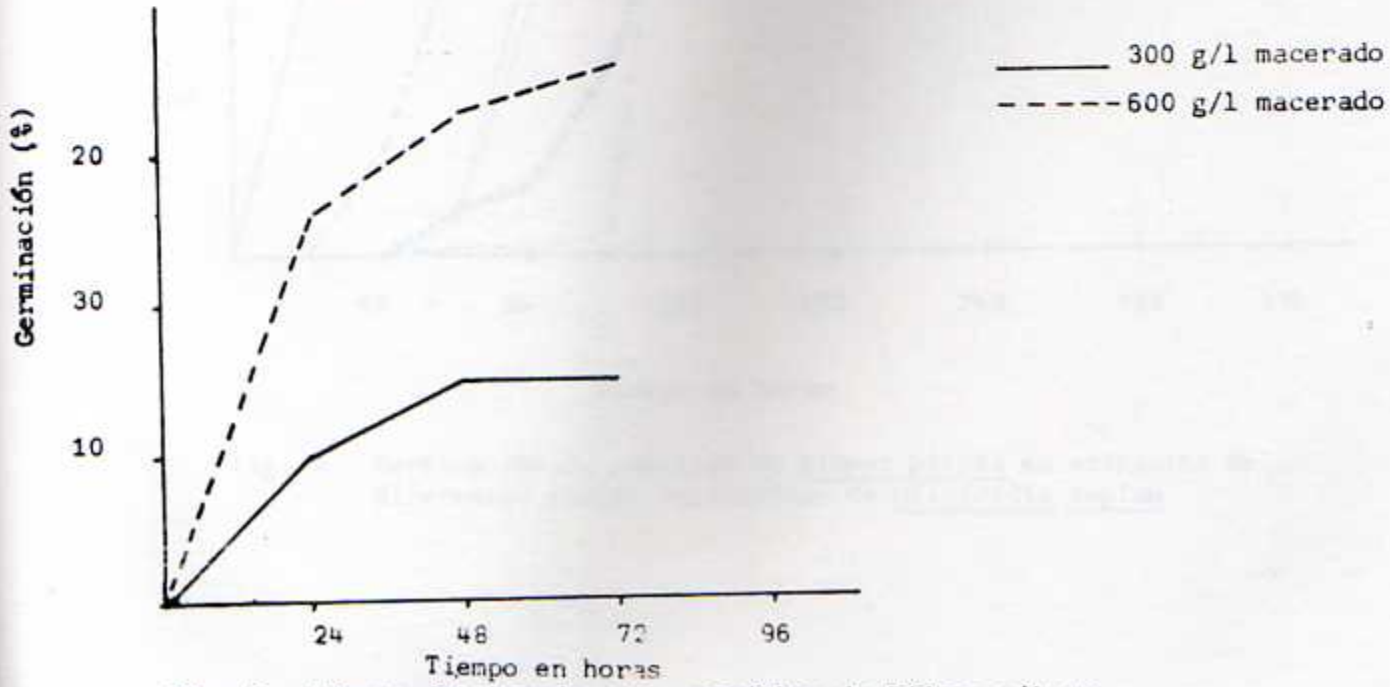



Fig. 2. Efecto del lavado sobre semillas de Bidens pilosa.

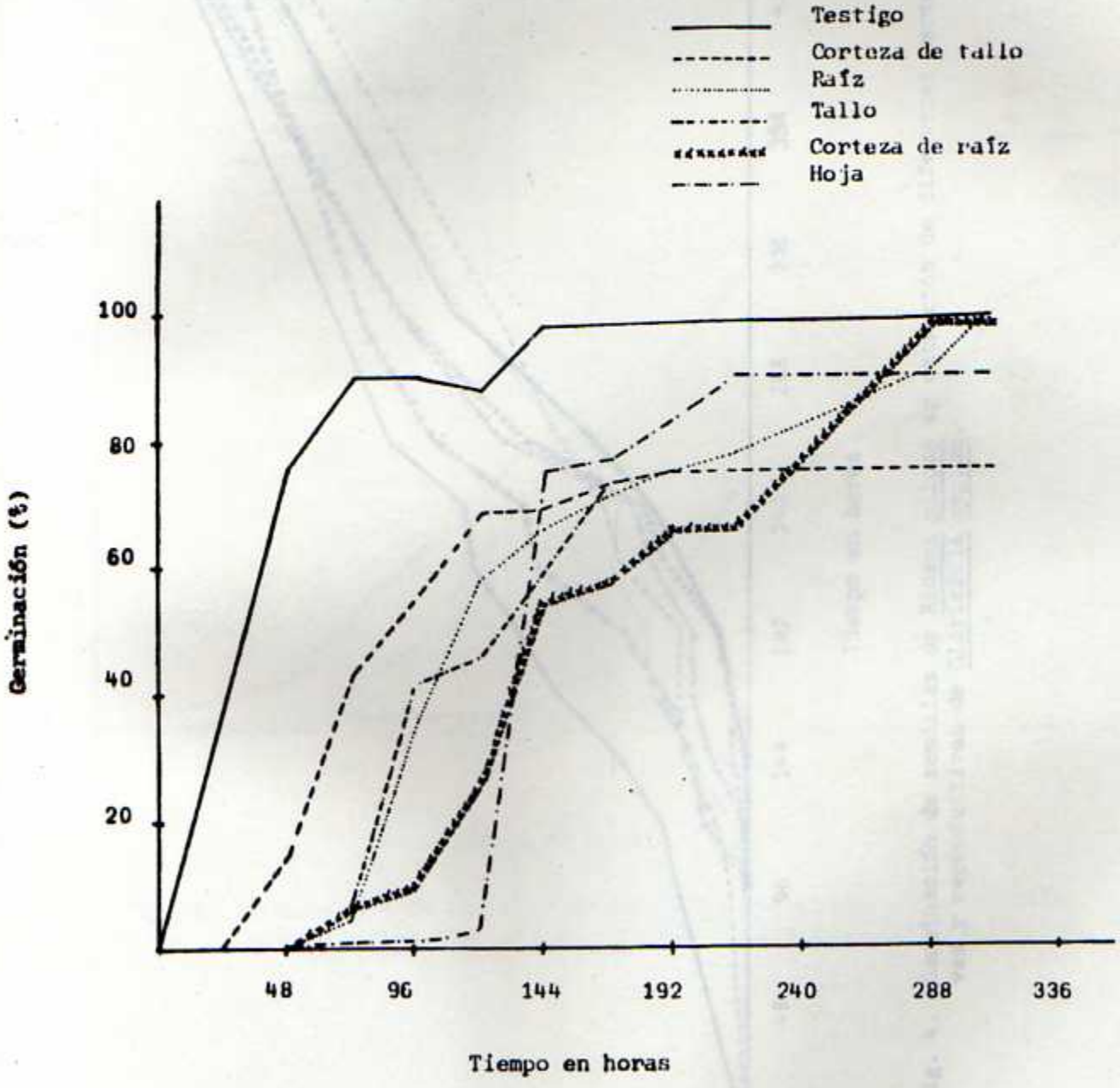



Fig. 3. Germinación de semillas de Bidens pilosa en extractos de diferentes partes vegetativas de Gliricidia sepium

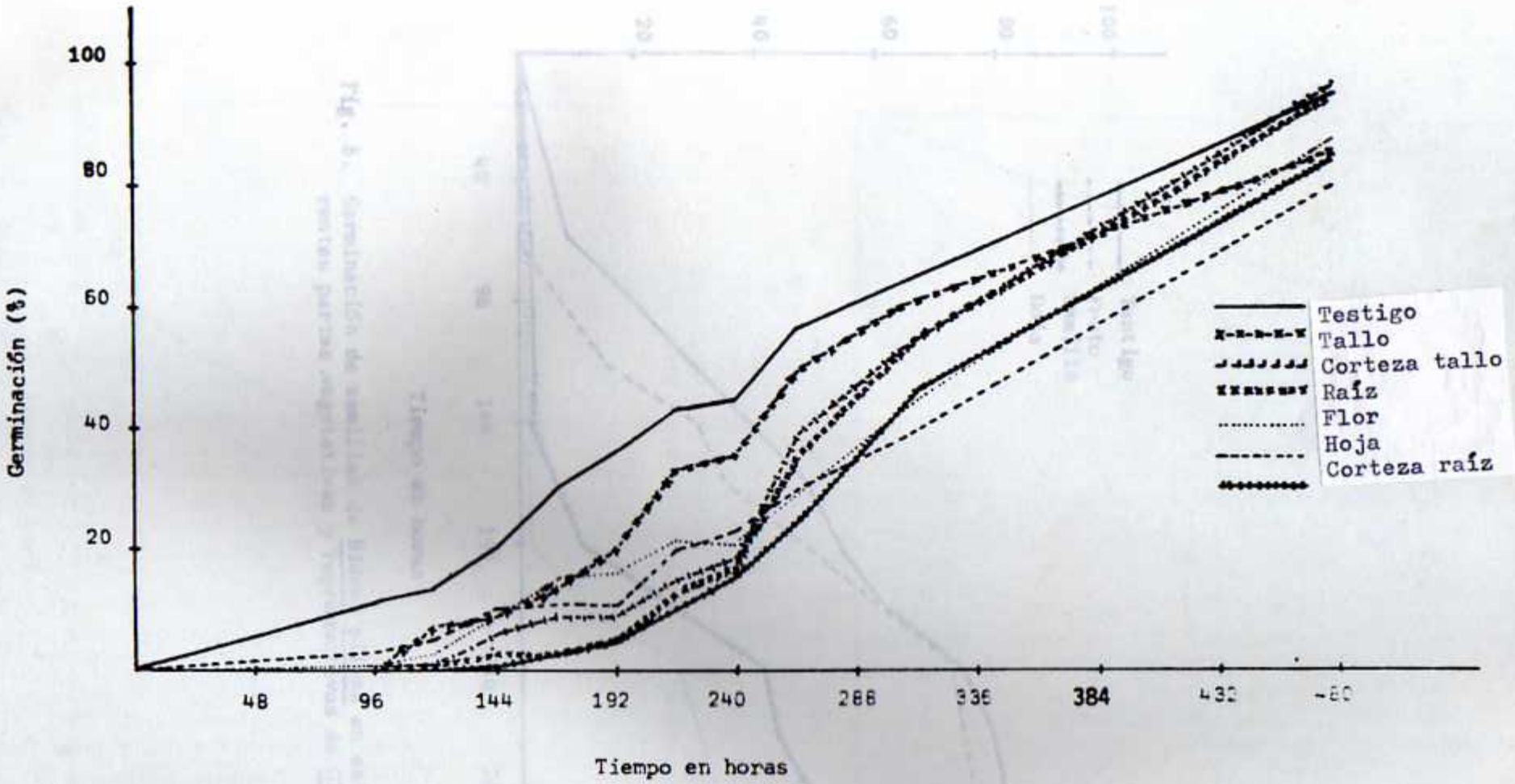



Fig. 4. Germinación de semillas de Bidens pilosa en extractos de diferentes partes vegetativas y reproductivas de Gliricidia sepium.

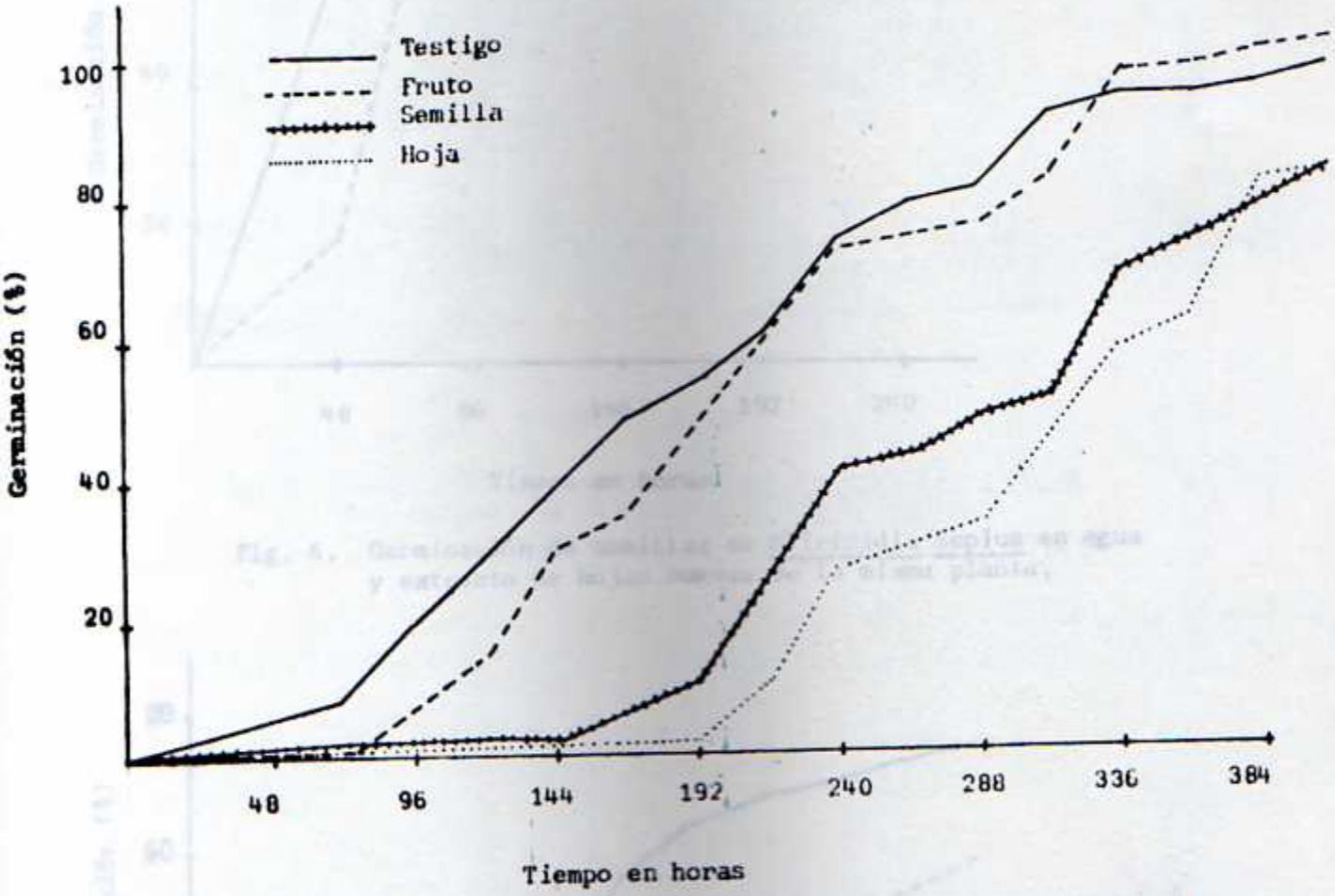



**Fig. 5.** Germinación de semillas de Bidens pilosa en extractos de diferentes partes .vegetativas y reproductivas de Gliricidia sepium.

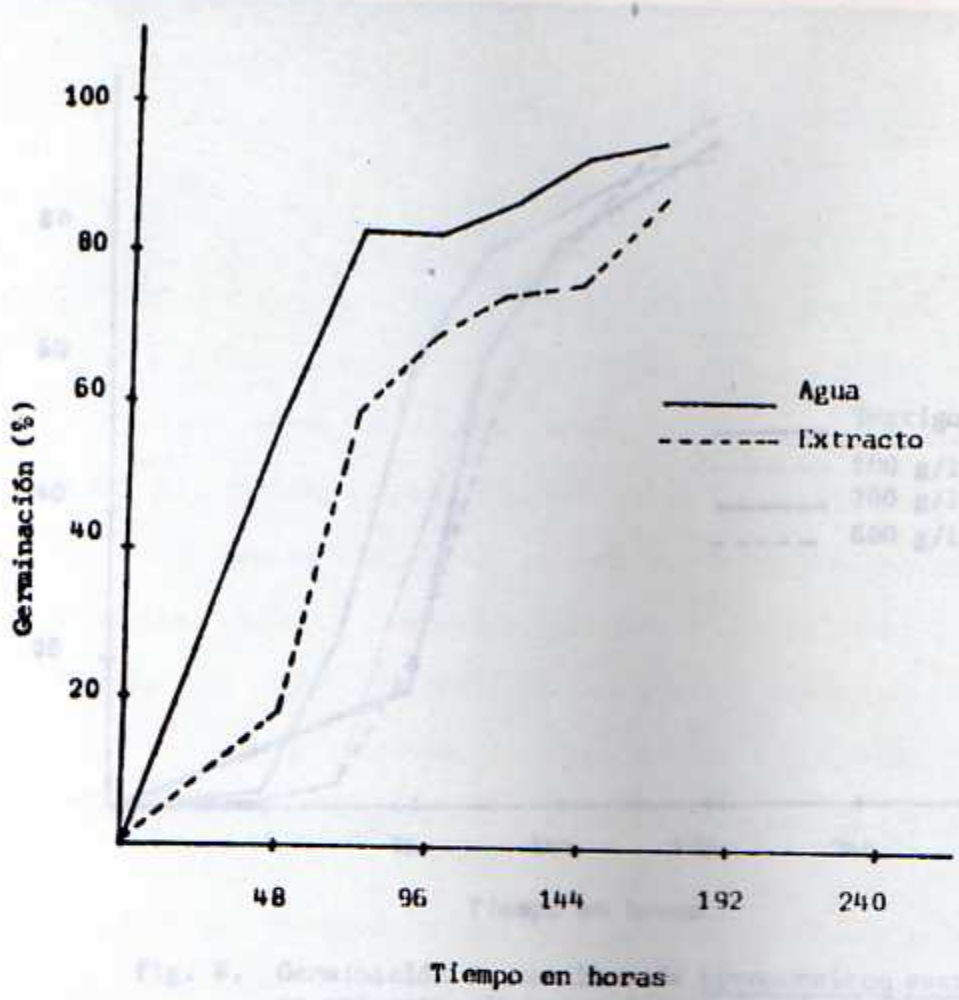



**Fig. 6.** Germinación de semillas de Gliricidia sepium en agua y extracto de hojas nuevas de la misma planta.

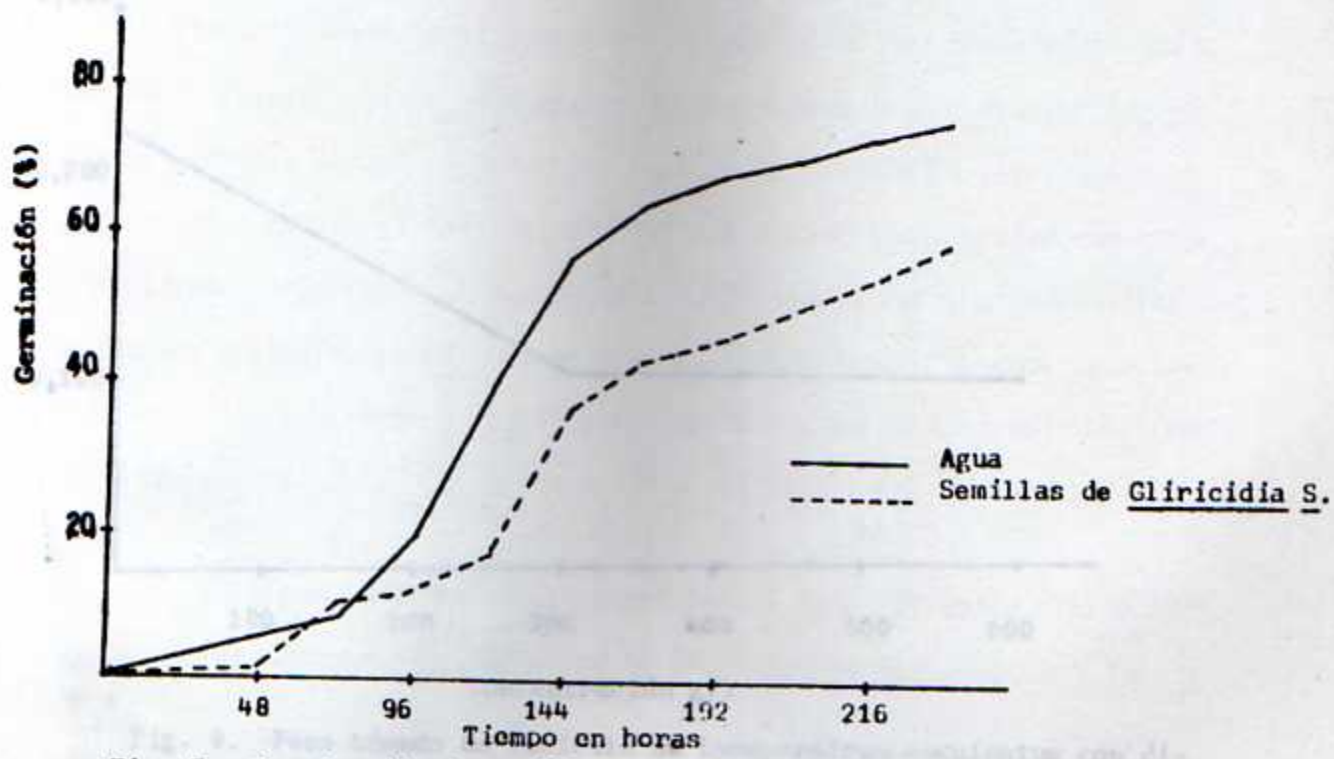



**Fig. 7.** Germinación de semillas de Biden pilosa en agua y junto con semillas de Gliricidia sepium

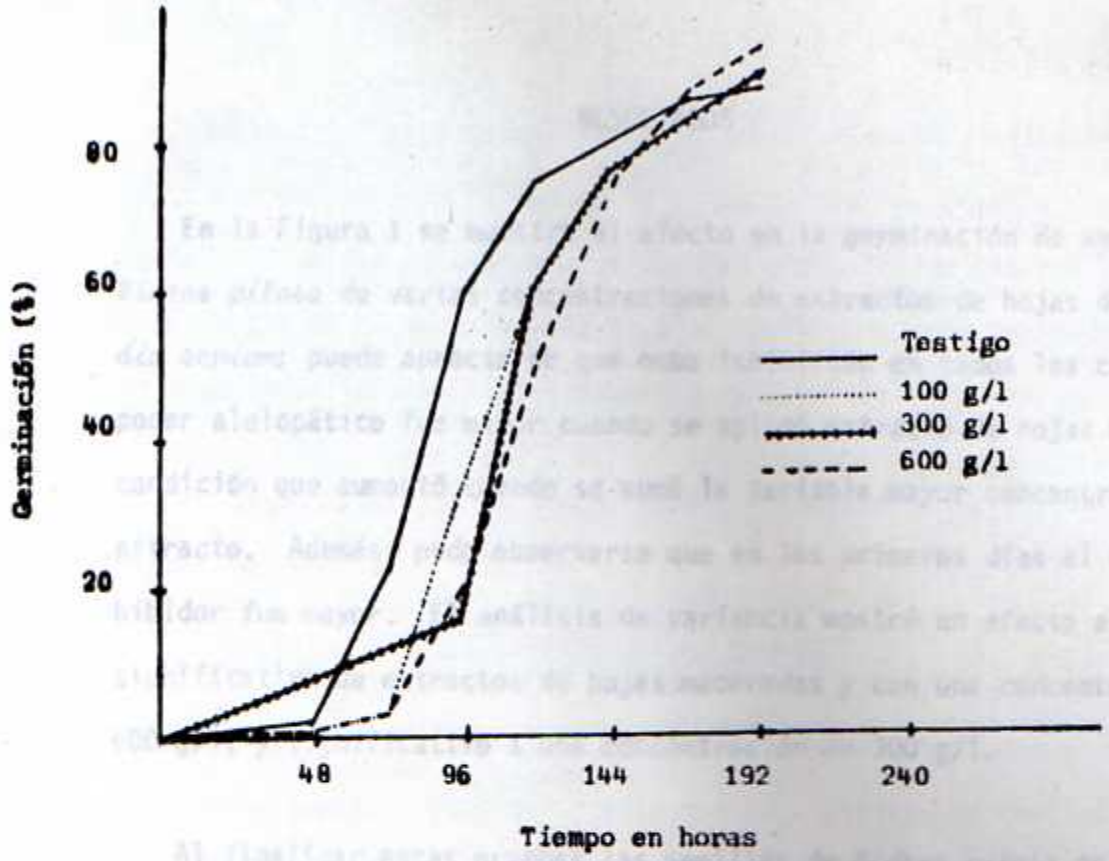



**Fig. 8.** Germinación de semillas de Lycopersicon esculentum en extractos de hojas de Gliricidia sepium.

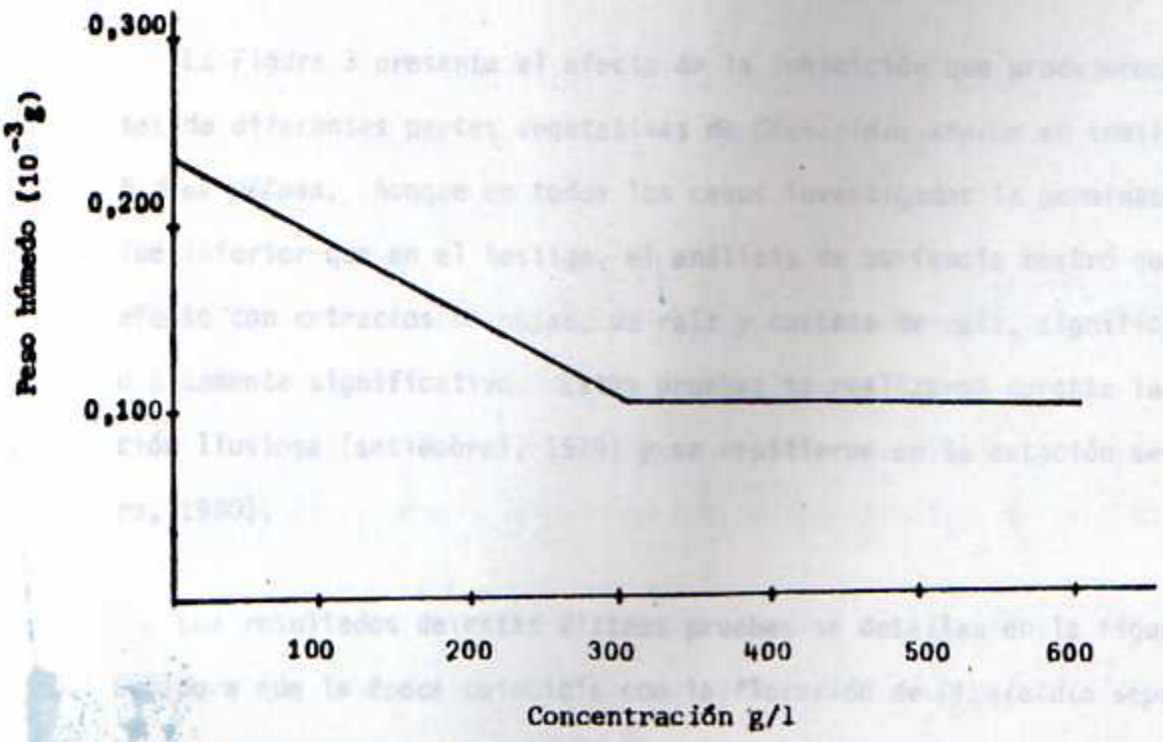



**Fig. 9.** Peso húmedo de radícula de Lycopersicon esculentum con diversas concentraciones de extracto de hojas de Gliricidia sepium.

# RESULTADOS

En la Figura 1 se muestra el efecto en la germinación de semillas de *Bidens pilosa* de varias concentraciones de extractos de hojas de *Gliricidia sepium*; puede apreciarse que hubo inhibición en todos los casos. El poder alelopático fue mayor cuando se aplicó extracto de hojas maceradas, condición que aumentó cuando se sumó la variable mayor concentración del extracto. Además, pudo observarse que en los primeros días el efecto inhibidor fue mayor. El análisis de variancia mostró un efecto altamente significativo de extractos de hojas maceradas y con una concentración de 600 g/l, y significativo a una concentración de 300 g/l.

Al finalizar estas pruebas las semillas de *Bidens pilosa* se lavaron repetidas veces y, al efectuar un seguimiento en su germinación, se notó que ésta aumentaba considerablemente después del lavado (Figura 2).

La Figura 3 presenta el efecto de la inhibición que produjeron extractos de diferentes partes vegetativas de *Gliricidia sepium* en semillas de *Bidens pilosa*. Aunque en todos los casos investigados la germinación fue inferior que en el testigo, el análisis de variancia mostró que hubo efecto con extractos de hojas, de raíz y corteza de raíz, significativo o altamente significativo. Estas pruebas se realizaron durante la estación lluviosa (setiembre), 1979) y se repitieron en la estación seca (enero, 1980).

Los resultados de estas últimas pruebas se detallan en la figura 4. Debido a que la época coincidía con la floración de *Gliricidia sepium*, se

incluyeron las flores para obtener un nuevo extracto y estudiar su efecto. Se hizo análisis de variancia a los 10 y a los 20 días, respectivamente. El de los 10 días mostró que los extractos de flores, hojas, corteza de tallo, corteza de raíz y raíz, tuvieron efecto inhibidor altamente significativo sobre la germinación de semillas de *Bidens pilosa*.

A los 20 días sólo se obtuvo efecto altamente significativo en el extracto de corteza de raíz.

En la Figura 5 se observa el efecto de la inhibición de la germinación de semillas de *Bidens pilosa* con extractos de hojas, frutos y semillas de *Gliricidia sepium*. Como en el experimento anterior, se realizó análisis de variancia en dos oportunidades, a los 10 y 17 días, respectivamente. A los 10 días fue altamente significativo el extracto de hojas y significativos los de semillas y frutos.

A los 17 fueron significativos los extractos de hojas, semillas y frutos, lo que demuestra una vez más la disminución del efecto inhibitorio con el transcurso del tiempo.

La Figura 6 presenta el efecto del extracto de hojas nuevas de *Gliricidia sepium* sobre la germinación de semillas de *Bidens pilosa*. Se comprobó con la ayuda de la prueba t, que su acción fue altamente significativa a los tres días, pero su efecto no fue ya significativo a los 7 días.

En la Figura 7 se muestra que a los 3 días no hay todavía efecto inhitorio de las semillas en germinación de *Gliricidia sepium* sobre las de *Bidens pilosa*, pero a los 11 días sí se nota un efecto inhibitorio significativo (Prueba t).

En la Figura 8 se observa el efecto de la germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) con extractos de hojas de *Gliricidia sepium* en diferentes concentraciones. Los resultados indican que la inhibición de la germinación fue mayor mientras mayor fue la concentración del extracto utilizado; aunque el tiempo en que se manifestó la inhibición fue menor que en semillas de *Bidens pilosa*.

La Figura 9 muestra el efecto inhibitorio que extractos de hojas de *Gliricidia sepium* de diferentes concentraciones, produjeron en el crecimiento de peso fresco de la radícula de tomate. El análisis de variancia mostró resultados similares a los que se presentan en la Figura 9, ya que nuevamente los extractos de hoja en las concentraciones de 600 g/l y 300 g/l tuvieron efecto significativo.

Al realizar el análisis cromatográfico del extracto de hojas de *Gliricidia sepium* con una concentración de 600 g/l, se obtuvo un Rf de 0,86. Se utilizó papel Whatman N° 1 y butanol, ácido acético, agua en proporciones de 4:1:5 como solvente. El Rf que se obtuvo se aproxima al que se ha establecido para el ácido protocatéquico (0,85), fenol que se encuentra frecuentemente entre los componentes de sustancias alelopáticas (Lederer y Lederer, 1957).

# DISCUSION

El estudio de la alelopatía ha despertado el interés de investigadores de varios países. Estos trabajos, realizados en diversas especies, han demostrado la existencia de sustancias alelopáticas en gran cantidad de familias de plantas superiores, de hongos y también en algas (Lodhi, 1975; 1976; Overland, 1966; Rice, 1972; 1979; Sullivan e Ikawa, 1972; Whittaker y Feeny, 1971).

Hace algún tiempo, se consideraba que la competencia era el fenómeno que ponía en juego la selección natural propia de una comunidad, de modo que la absorción de nutrimentos y el aprovechamiento de agua o luz significaba la mantención y perfeccionamiento de adaptaciones que lograban realizar este objetivo del modo más eficiente para cada planta.

Hoy se ha sumado a la competencia la alelopatía, como otro fenómeno natural de importancia en el equilibrio de los ecosistemas (Bazzaz, 1975). La liberación de sustancias químicas puede actuar inhibiendo la germinación de semillas o el crecimiento de plántulas. De este modo, la planta productora de los compuestos alelopáticos elimina la posibilidad de competencia de las especies sobre las cuales actúa (Whittaker y Feeny, 1971).

En esta investigación se determinó la presencia de sustancias alelopáticas en partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium*. Estos compuestos mostraron inhibición en la germinación de semillas de *Bidens pilosa* (Figuras 1-7) y de *Lycopersicon esculentum* (Figuras 8 y 9).

Las diferentes concentraciones de los extractos influyeron notablemente en la inhibición mencionada, siendo mayor cuando la concentración era más alta, es decir de 600 g/l peso fresco (Figuras 1 y 8). Es probable que la lluvia y el rocío actúen como solventes para el complejo alelopático de *Gliricidia sepium*, que al llegar al suelo puede acumularse ejerciendo una activa acción sobre las semillas circundantes (Lodhi, 1976).

Otro factor que posiblemente influyó en la mayor acción alelopática de *Gliricidia* fue la maceración de las hojas utilizadas para obtener el extracto (Figura 1). Puede ser que al romper los tejidos foliares se incorporen a la solución alelopática sustancias insolubles o poco solubles que aumentan la capacidad inhibitoria de las que se solubilizan con facilidad (Carley y Watson, 1968; Lines, 1977).

Por otra parte, es posible que la composición química de la cutícula de las hojas facilite la calidad de exudados alelopáticos. Tukey (1969) establece que la presencia de materias lipídicas en ella permite un movimiento relativamente fácil de sustancias liposolubles. También influye la presencia de agentes humectantes y de proyecciones de pectina en la superficie. Otros aspectos de importancia son el grosor de la cutícula, la falta de pubescencia y la orientación que presentan las hojas (Tukey, 1969).

Los extractos que mayor efecto presentaron, fueron los de corteza de raíz y de hojas (Figuras 3 y 4). Estos resultados se mantuvieron tanto en la estación húmeda como en la seca, debido a las características específicas de la planta. Se trata de una especie decidua, que en la época en que se encuentra sin hojas desarrolla una gran actividad fisiológica: produce

flores, frutos y brotes de nuevas hojas. Esto podría sugerir que las sustancias alelopáticas se sintetizan en la raíz y exudan al exterior a través de la corteza. Desde la raíz pueden movilizarse el resto de la planta y por ello se las encuentra también en la corteza del tallo, en flores y frutos en esta época (Figura 5). Rice (1979), señala que Macleod y Pridham (1965), midieron los ámbitos de translocación de 30 fenoles y flavonoides en tallos de *Vicia faba L.* Con su trabajo llegaron a determinar que la velocidad con que estos compuestos se trasladan desde las hojas apicales a lo largo del tallo, fue de 12 a 108 cm/hr y que este movimiento se hacía por el floema, manteniéndose la composición química inicial.

Otra explicación permite suponer que el proceso se realiza en sentido inverso, debido a que la luz se considera un catalizador importante en la producción alelopática (Lines y Fournier, 1979). Por ello, las sustancias químicas pueden producirse en los brotes de hojas y trasladarse hasta la raíz para acumularse en la corteza. No hay estudios en los que se investiguen los lugares de síntesis o almacenamiento de los compuestos alelopáticos, pero se utilizan en algunos trabajos las hojas como una de las partes vegetativas más importantes en la preparación de extractos. Esto podría indicar su importancia, al menos, como lugar de almacenamiento (Del Moral y Cates, 1971; Lodhi, 1978).

El complejo alelopático presente en *Gliricidia sepium* se libera con mayor facilidad desde las hojas, que de otros órganos de la planta (Figuras 5 y 7). Esto hace que las semillas de *Gliricidia sepium* en germinación, afecten a las semillas de *Bidens pilosa*. En semillas y en frutos existen cubiertas protectoras más resistentes que en las hojas, lo que significa

un obstáculo mayor para la salida de los exudados. Esta misma característica permite, especialmente a las semillas y frutos, mantener la liberación de sustancias alelopáticas por un tiempo mayor que el que necesitan las hojas, pues la paulatina destrucción de sus tejidos por la acción microbiana mantiene relativamente constante la liberación de sustancias (Del Moral y Muller, 1970; Lines y Fournier, 1979; Lodhi, 1978).

Se observó efecto autoalelopático cuando se agregó extracto de hojas de *Gliricidia sepium* a sus propias semillas (Figura 6). Este efecto disminuyó al tercer día aunque no desapareció totalmente. Newman y Rovira (1975), citados por Rice (1979), informan que la autoalelopatía se presenta generalmente en casos aislados o en pocos ejemplares de un grupo. Concluyeron que, aparentemente, los exudados autoalelopáticos realizaban una función de control de la diversidad de especies en hierbas.

Al parecer, el arrastre de compuestos por el agua es mayor en hojas muy jóvenes o muy viejas, casi secas (Coutinho y Hashimoto, 1971). Esto se comprobó en el presente trabajo cuando se hizo actuar extracto de hojas nuevas sobre semillas de *Gliricidia sepium* (Figura 6). Puede explicarse este comportamiento analizando la estructura y fisiología de la hoja en estos dos momentos de su ciclo de vida. Cuando está tierna, el metabolismo es muy activo porque necesita crecer y desarrollarse. La producción alelopática es presumiblemente mayor y con más facilidad de liberación. Por otra parte, si la síntesis de las sustancias alelopáticas se realiza en las raíces y se tiene en cuenta que las hojas jóvenes son centros activos de consumo de nutrimentos, agua y productos metabólicos, podría pensarse que la mayor concentración en estas hojas se deba a que sea hacia ellas a donde se produzca

un mayor traslado.

La acción de las sustancias alelopáticas de *Gliricidia sepium* no es uniforme, sino que depende de la especie sobre cuyas semillas actúe. Se puede suponer que en hierbas del tipo *Bidens pilosa* (Figuras 1-7), su acción es mayor que en semillas de hortalizas como el tomate (*Lycopersicon esculentum*) (Figuras 8 y 9). La constitución química de la sustancia inhibidora y la estructura anatómica de las semillas, podrían ser algunos de los factores responsables de la diferencia (Lines, 1977).

El análisis cromatográfico del extracto acuoso de hojas de *Gliricidia sepium* indicó la presencia de un fenol con un Rf = 0,86 en butanol, ácido acético y agua 4:1:5. La aproximación más cercana corresponde al ácido protocatéquico ($C_7H_6O_4$). En estudios futuros se debe corroborar su presencia, además de continuar identificando constituyentes con acción alelopática en *Gliricidia sepium*.

Un estudio fitoquímico con esta misma especie permitió la identificación de un compuesto llamado robinetina y un fenol incoloro llamado sepiol ($O_{16}H_{14}O_5$) , que es óptimamente inactivo y se conoce como "2,3,7- trihidroxy-4, methoxy- isoflav -3- ene" (Jurd, 1976).

En otro estudio realizado con extractos etéreos de madera de *Gliricidia sepium*, se determinó la presencia de una flavanona llamada butin 2 y un isoflavan fenólico que puede presentarse como isomucronulatol ($C_{17}H_{18}O_5$) o mucronulatol (Manners y Jurd, 1979). Ese mismo trabajo mostró en extractos de acetona de la madera de *Gliricidia sepium*, la presencia de una nueva isoflavona llamada gliricidín ($C_{16}H_{12}O_6$), un nuevo dihidroflavonol llamado sepinol

($C_{16}H_{14}O_7$) y una B-hidroxidihidrochalcona llamada gliricidol ($C_{16}H_{16}O_7$) (Manners y Jurd, 1979).

Jurd (1976) considera que la presencia de isoflavenos puede determinar un papel muy importante en la biosíntesis de isoflavanos y otros tipos de isoflavonoides en Leguminosae. Sin embargo, no se ha probado el efecto alelopático de estas sustancias.

En una investigación realizada en Ericaceae se estableció que el ácido salicílico ($C_7H_6O_3$) y gentísico ($C_7H_6O_4$) se encuentran juntos en un gran número de especies, y al estudiar su relación con $C^{14}$, se encontró que el ácido salicílico se convierte en gentísico y ácido o-pirocatéquico ($C_7H_6O_4$). La existencia del ácido salicílico no se limita solamente a Ericaceae, sino que se encuentra en diversas familias de plantas superiores. Esos autores señalan que es importante destacar que la planta de trigo también realiza la conversión de ácido salicílico a ácido gentísico y o-pirocatéquico (Ibrahm y Towers, 1959).

En helechos también se han investigado los compuestos fenólicos presentes y se determinó que los numerosos ácidos fenólicos que tienen, pueden formarse a partir de ácido cinámico ($C_9H_8O_2$) (Bohm y Tryon, 1967).

Una posible vía de investigación para *Gliricidia sepium* podría determinar el origen del ácido protocatéquico tentativamente identificado en este trabajo. Así como en Ericaceae el ácido salicílico da origen al ácido gentísico y al ácido o- pirocatéquico, es posible que existan en *Gliricidia sepium* otros compuestos fenólicos desconocidos, a partir de los cuales pueda sintetizarse el ácido protocatéquico (Ibrahim y Towers, 1959).

Es conveniente tener en cuenta la liberación de sustancias alelopáticas en *Gliricidia sepium* para el manejo de la especie en silvicultura, pues puede inhibir el crecimiento de hierbas y matorrales que son necesarios para la mantención del ecosistema y para favorecer la erosión del terreno (Bazzaz, 1975; Raynal y Bazzaz, 1975).

La alelopatía que presenta *Gliricidia sepium*, no parece favorecer el uso de ésta como sombra en un cultivo. Pero podría considerarse su utilización como sombra en un potrero, debido a que en densidades bajas, la inhibición en la germinación de semillas es leve y en cambio el aporte que sus raíces hacen de nitrógeno al terreno, significa un aumento en los niveles de proteínas en las hierbas forrajeras (Daccarett y Blydenstein, 1968).

También el uso como "poste vivo" en cercas quedaría justificado, pues la alelopatía ayudaría a mantener limpia la cerca, como en efecto sucede.

# CONCLUSIONES

1. En este estudio se comprobó el efecto alelopático de extractos acuosos de partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium*.

2. El efecto inhibidor de los extractos sobre la germinación de las semillas fue mayor conforme se aumentaba su concentración.

3. La maceración del material vegetal aumentó la eficacia de los extractos en todas las concentraciones.

4. La corteza de la raíz y las hojas fueron las partes que mostraron una mayor concentración del complejo alelopático. Esto hace suponer que la síntesis de estas sustancias se localiza en alguno de estos órganos o en ambos.

5. El efecto alelopático se manifiesta tanto en la estación lluviosa como en la seca.

6. Se observó que las semillas de *Gliricidia sepium* en germinación, tienen también efecto alelopático.

7. Se observó un efecto autoalelopático del extracto foliar sobre las semillas de *Gliricidia sepium*.

6. Se logró aislar una sustancia fenólica tentativamente identificada como ácido protocatéquico de los extractos acuosos de hoja de *Gliricidia sepium*.

## RESUMEN

Se estudió el efecto alelopático de extractos acuosos de partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium* en la germinación de semillas de *Bidens pilosa y Lycopersicon esculentum*. La concentración de los extractos influyó en la inhibición de la germinación de estas semillas de modo que a mayor concentración el efecto aumentó. Además, el grado de maceración del material usado para obtener los extractos también hizo que el efecto se hiciera mayor.

Se postula que el complejo alelopático puede sintetizarse en las hojas o en la corteza de la raíz de la planta debido al mayor efecto alcanzado con extractos de estas regiones. También podría sintetizarse en ambos lugares.

No se presenta estacionalidad en el efecto alelopático y la especie mostró autoalelopatía al inhibir la germinación de sus propias semillas con extractos de hojas nuevas. Se identificó tentativamente un fenol, el ácido protocatéquico, como constituyente del complejo alelopático en *Gliricidia sepium*

## LITERATURA CITADA


1. Adams, R.P. y A. Hagerman. Diurnal variation in the volatile-terpenoids of Juniperus scopulorum (Cuppressaceae). Amer. J. Bot. 64(3): 278-285. 1977.

2. Anaya, A.L. y A. Gómez-Pompa. Inhibición del crecimiento producido por el "Piru" (Schinus molle L.). Rev. Soc. Mexicana de Hia. Nat. N° 32:99-109. 1971.

3. Anderson, H.G. Growth form and distribution of vine maple (Acer circinatum on Marys Peak, Western Oregon. Ecology. 50(1): 127-130. 1969.

4. Bandaranayake, W.M. Terponoids of Canaricum Zeylanicum. Phytochemistry. 19(2): 225-257. 1980.

5. Bazzaz, F.A. Plant species diversity in old-field successional ecosystems in Southern Illinois. Ecology. 56(2): 485-488. 1975.

6. Bohm, B.A. y R.M. Tryon. Phenolic compounds in ferns. Can. J. Bot. 45(5): 585-593. 1967.

7. Carley, H.E. y R.D. Watson. Effect of various aqueous plant extracts upon seed germination. Bot. Gaz. 129(1): 57-62. 1968.

8. Coutinho, L.M. y F. Hashimoto. Sobre o efeito inibitório da germinação de sementes produzido por fôlhas de Calea cuneifolia D.C. Ciencia e Cultura. 23(6): 759-764. 1971.

9. Daccarett, M. y J. Blydenstein. La influencia de árboles leguminosos y no leguminosos sobre el forraje que crece bajo ellos. Turrialba. 18(4): 405-408. 1968.

10. Danks, M.L., J.B. Fletcher y E.L. Rice. Effects of phenolic inhibitors on growth and metabolism of glucose-ul- 14C in Paul 's Scarlet rose cell-suspension cultures. Amer. J. Bot. 62(3): 311-317. 1975.

11. Del Moral, R. y C.H. Muller. The allelopathic effects of Eucalyptus camaldulensis. The Am. Midl. Nat. 83(1): 254-282. 1970.

12. Del Moral, R. y R.G. Gates. Allelopathic potential of the dominant vegetation of Western Washington. Ecology. 52(6): 1030-1037. 1971.

13. Fisher, R.F. Allelopathy: a potential cause of regeneration failure. Journal of Forestry. 78(6): 346-348. 1980.

14. Gant, R.E. y E.E.C. Clebsch. The allelopathic influences of Sassafras albidum in old-field succession in Tennesse. Ecology. 56(1): 604-615. 1975.

15. Groner, M.G. Intraespecific allelopathy in Kalanchoe daigremontiana. Bot. Gaz. 135(1): 73-79. 1974.

16. _____. Allelopathic influence of Kalanchoe daigremontiana. on other species of plants. Bot. Gaz. 136(2): 207-211 1975.

17. Ibrahim, R.K. y G.H.N. Towers. Conversion of salicylin acid to gentisic acid and o- pyrocatechuic acid, all labelled with carbon- 14, in plants. Nature. 184 (4701): 1803. 1959.

18. Jackson, J.R. y R.W. Willemsen. Allelopathy in the first stages of secondary succession on the piedmont of New Jersey. Amer. J. Bot. 63(7): 1015-1023. 1976

19. Jurd, L. A phenolic isoflav-3-ene from Gliricidia sepium. Tetrahedron Letters. N° 21: 1741-1744. 1976.

20. Kapustka, L.A. y F.L. Moleski. Changes in community structure in Oklahoma old field succession. Bot. Gaz. 137(1): 7-10. 1976.

21. Koeppe, D.E., L.M. Southwick y J.E. Bittell. The relationship of tissue chlorogenic acid concentrations and leaching of phenolics from sunflowers grown under varying phosphate nutrient conditions. Can. J. Bot. 54(7): 593-599. 1976.

22. Lederer, E. y Lederer, M. Chromatography. 2nd. Ed. Amsterdam, Elsevier Publishing Company; pp. 162-166. 1957.

23. Leuck II, E.E. y E.L. Rice. Effect of Rhizosphere bacteria of Aristida oligantha on Rhizobium and Azotobacter. Bot. Gaz. 137(2): 160-164. 1876.

24. Lines, M.N. Estudio preliminar sobre el efecto alelopático de Cupressus lusitanica Mill. Tesis de Licenciada en Biologia, San Pedro de Montes de Oca, Universidad de Costa Rica, 1977. 47 p.

25. _____ y L.A. Fournier O. Efecto elelopático de Cupressus lusitanica Mill. sobre la germinación de semillas de algunas hierbas. Rev. Biol. Trop 27(2): 223-229. 1979.

26. Lodhi, M.A.K. Soil plan phytotoxicity and its possible significance in patterning of herbaceous vegetation in a bottomland forest. Amer. J. Bot. 62(6): 618-622. 1975.

27. _____. Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a lowland forest in controlling the productivity and Pattern of herbaceous growth. Amer. J. Bot. 63(1): 1-8. 1976.

28. _____. Allelopathic effects od decaying litter of dominant trees and their associated soil in a lowland forest community. Amer. J. Bot. 65(3): 340-344. 1978.

29. Maia, R.H. y E. Jiménez S. Importancia de las sustancias polifenólicas en el mecanismo fisiológico de la resistencia de cacao (Theobroma cacao L.) a Phytophthora palmivora (Butl) Butl. Turrialba. 16(4): 319-329. 1966.

30. Manners, G.D. y L. Jurd. Additional flavanoids in Gliricidia sepium. Phytochemistry. 18: 1037-1042. 1979.

31. Neill, R.L. y E.L. Rice. Possible role of Ambrosia psilostachya on pattern and succession in old- fields Am. Midl. Nat. 86(2): 344-348. 1971.

32. Overland, L. The role of allelopathic substances in the "smother crop" barley. Am. J. Bot. 53(5): 423-432. 1966.

33. Putnam, A.R. y W.B. Duke. Biological supression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. Science. 185(4148): 370-371. 1974.

34. Raynal, D.J. y F.A. Bazzaz. Interference of winter annuals with Ambrosia artemisifolia in early successional fields. Ecology. 56(1): 35-49. 1975.

35. Rice, E.L. Allelopathic effects of Andropogon virginicus and its persistence in old fields. Amer. J. Bot. 59(7): 752-755. 1972.

36. _____. Allelopathy -an update. The Botanical Review. 45(1): 15-109. 1979.

37. Sullivan, J.D. Jr. y M. Ikawa. Variations in inhibition of growth of five Chlorella strains by mycotoxine and other toxic substances. J. Agr. Food Chem. 20(4): 921-922. 1972.

38. Svejda, F.J. y P.A. Poapst. Effects of different afterripening tratments on germination and endogenous growth inhibitors in Rosa rugosa. Can. J. Plant. Sci. 52: 1049-1058. 1972.

39. Tukey, Jr. H.B. Implications of allelopathy in agricultural plant science. The Botanical Review. 35(1): 1-16. 1969.

40. Van der Valk, A.G. y C.B. Davis. The seed banks of prairie glacial marshes. Can. J. Bot. 54(15): 1832-1838. 1976.

41. Willemsen, R.W. y E.L. Rice. Mechanism of seed dormancy in Ambrosia artemisifolia. Amer. J. Bot. 59(3): 248-257. 1972.

42. Whittaker, R.H. y P.P. Feeny. Allelochemics: chemical interaction between species. Science. 171(3937): 757-770. 1971.