



Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud
Departamento de Biología y Ambiente

Evaluación del *Senecio subumbellatus* Phil. como potencial bioherbicida

Alumna: Pailacura Mariana Delia

Director: Lic. Mendes Rosa Maximiliano

Co-directora: Dra. Marchiaro Alicia Beatriz

Año: 2022

Introducción

El paulatino crecimiento demográfico a nivel mundial durante las últimas décadas y el consecuente aumento de la demanda de alimentos generan la necesidad de intensificar la producción agrícola para producir alimentos a una mayor escala y velocidad. En la actualidad en los campos se aplican grandes cantidades de fertilizantes y herbicidas (agroquímicos) con el fin de lograr mejores rendimientos de las cosechas y controlar organismos “nocivos” para los cultivos [1].

Entre los organismos que representan una importante limitación en la producción agrícola se encuentran las plantas consideradas como “malezas”. Las malezas compiten con los cultivos por los nutrientes del suelo, el agua y la luz, reduciendo la eficiencia de la fertilización y la irrigación, y sirven de hospederas de insectos y patógenos que afectan a las plantas cultivables [2]. Para el manejo de las malezas el método más utilizado es la aplicación de herbicidas, sustancias elaboradas a partir de compuestos orgánicos sintéticos que interfieren en los procesos bioquímicos, como la fotosíntesis, la división celular o el crecimiento [3].

Los herbicidas se pueden aplicar al follaje (herbicidas de contacto o sistémicos) o al suelo. A los herbicidas de aplicación al suelo se los conoce como herbicidas residuales, ya que generalmente actúan afectando la germinación de las malezas y por ello tienen que persistir por algún tiempo para ser efectivos [3]. La aplicación de herbicidas sobre el follaje puede realizarse a través de distintos métodos ya sea por fumigaciones terrestres o aéreas a espolvoreo, aplicaciones por contacto y pulverizaciones. Las aplicaciones aéreas son uno de los métodos más utilizados porque permiten cubrir grandes extensiones de campo en poco tiempo, sin embargo, debido a la acción del viento una gran porción del producto fitosanitario aplicado se desvía hacia lugares no deseados contaminando zonas no destinadas al cultivo. Este fenómeno se conoce como “deriva” y es el responsable de la contaminación de “sitios no blanco”, situados en áreas distantes, tales como otros cultivos, fuentes de agua, especies animales, etc. [4].

Una vez que entran en contacto con los cultivos, los herbicidas pueden ser absorbidos directamente por las plantas o permanecer en su superficie y ser arrastrados hacia el suelo por la lluvia o la irrigación. De esta manera pueden luego ingresar al suelo y lixiviarse o escurrirse superficialmente. Las características fisicoquímicas del suelo y del compuesto aplicado determinarán si el herbicida es adsorbido, se degrada o continúa desplazándose hasta posiblemente alcanzar los mantos de agua subterránea. Si los herbicidas son adsorbidos por las partículas de suelo, quedan inmovilizados y no constituyen una amenaza para el agua subsuperficial, aunque pueden ocasionar problemas de contaminación del agua superficial por

erosión hídrica del suelo [5]. En caso de permanecer en la superficie de las hojas, los herbicidas se verán expuestos a los factores ambientales como el viento y el sol y por lo tanto sufrirán volatilización, fotólisis química y degradación microbiana. Todos estos procesos pueden reducir la concentración original del herbicida, pero también puede que compuestos resultantes de su descomposición más tóxicos que el químico original se introduzcan como metabolitos en los cultivos [6].

Además de las vías antes mencionadas, los cursos y cuerpos de agua pueden contaminarse con herbicidas cuando se les aplica directamente el producto para el control de plantas acuáticas, por descarga de aguas residuales de industrias productoras de herbicidas o agua de lavado de equipos empleados en la mezcla y aplicación de dichos productos. Los herbicidas pueden acumularse en los tejidos de animales (bioacumulación), llegando a concentraciones miles de veces mayores que las del agua. Luego, estos animales son depredados por otros, por lo cual la concentración de contaminantes aumenta al ascender la cadena trófica (biomagnificación) [1].

El glifosato y la atrazina son los herbicidas más utilizados en Argentina y en el mundo [7]. Además, se ha encontrado que son los más ubicuos en cuerpos de agua dulce de nuestro país [8]. Sobre ellos se han realizado numerosas investigaciones que demuestran su impacto en los ambientes acuáticos, y marinos en particular, entre los efectos que se han reportado se encuentran la reducción la riqueza específica de una comunidad acuática, alteraciones en la cadena alimenticia [9], daño histológico y hematológico por exposición a dosis subletales y mortalidad de peces expuestos a altas concentraciones [10]. Por otro lado, se ha encontrado que la atrazina puede producir efectos perjudiciales en la reproducción [11], efectos teratogénicos y neurotóxicos [12], bioacumulación y biomagnificación [13] y disminución del rendimiento fotosintético [14].

Los ecosistemas terrestres también se ven afectados, cuando los herbicidas aplicados alcanzan hábitats adyacentes a los cultivos, se produce en ellos disminución en la riqueza [15], alteración de la cobertura por especie [16], retraso en el crecimiento vegetativo [17], en la floración y en la producción de semillas [18]. El uso de los herbicidas afecta en forma indirecta a los insectos y organismos vertebrados como las aves, por la disminución de la población de ciertas especies de malezas que constituyen su fuente de alimento y el sitio donde depositan sus huevos [19].

La contaminación del agua, el aire y el suelo con herbicidas también causa impacto en la salud humana, las personas pueden tomar contacto y verse afectadas cuando se consumen alimentos que contienen residuos de estas sustancias, o cuando se exponen a ellas en el ambiente laboral, doméstico o lugares de recreación [6]. Existen diversos estudios que comprobarían la existencia

de un vínculo entre el glifosato y enfermedades como el cáncer, alteraciones genéticas, abortos espontáneos, entre otras [20]. Por su parte, la exposición a la atrazina, puede provocar problemas en la reproducción, defectos macrosómicos y alteración en los niveles de hormonas; así como efectos genotóxicos y mutagénicos [21].

Por lo expuesto anteriormente, se hace evidente la necesidad de buscar una alternativa sustentable para el manejo de cultivos que permitan desarrollar esta actividad productiva de forma rentable y no contaminante. En este sentido, una de las nuevas tendencias científicas que están en desarrollo es el empleo de bioherbicidas [22].

Los bioherbicidas se obtienen de sustancias que producen naturalmente los microorganismos y plantas y se los considera como “amigables con el ambiente” ya que generalmente son menos tóxicos que los herbicidas químicos, actúan sobre un objetivo específico causando mínimos efectos adversos sobre los animales y el entorno, y, además, pueden descomponerse rápidamente minimizando el riesgo de contaminación ambiental y toxicidad residual [23].

Los bioherbicidas pueden ser divididos en cuatro categorías [24]:

- Bioquímicos: Son sustancias químicas constituidas por extractos de plantas y otros compuestos químicos de origen natural que causan la muerte de las plagas.
- Semioquímicos: Son sustancias químicas producidas por plantas y animales que modifican el comportamiento de los individuos (insectos) que constituyen la plaga, pero sin causar su muerte. En este grupo se incluirían las feromonas.
- Microorganismos: Esta categoría incluye a bacterias, algas, protozoos, hongos y virus patógenos contra determinadas plagas.
- Macroorganismos: Esta categoría incluye a insectos, ácaros y nemátodos que son enemigos, antagonistas o competidores naturales de una plaga.

Dentro de los bioherbicidas bioquímicos se encuentran los llamados aleloquímicos, metabolitos secundarios que se producen y acumulan dentro de las plantas como resultado de reacciones naturales y cumplen funciones relacionadas con la autodefensa y la simbiosis [25]. Al ser liberados al ambiente los aleloquímicos influyen sobre el crecimiento y desarrollo de otros organismos (excluidos los animales) [26], en el caso de la interacción entre plantas vecinas, producen múltiples efectos como la inhibición o el retraso en la germinación de semillas o la inhibición o estimulación del crecimiento de las radículas, los brotes y las raíces [27]. Este mecanismo de interferencia química entre dos seres vivos se denomina alelopatía [28].

A pesar de que el fenómeno alelopático se conoce desde hace más de dos milenios, no fue sino hasta fines del siglo pasado, que se inició un análisis exhaustivo de sustancias naturales con el fin de incorporarlas al manejo agrícola y reducir el uso de herbicidas sintéticos, disminuyendo así el deterioro ambiental. Los miles de aleloquímicos producidos por plantas y microorganismos proveen una asombrosa diversidad de estructuras químicas y ofrecen una oportunidad para encontrar nuevos herbicidas, estimuladores y reguladores del crecimiento [29].

Los metabolitos secundarios se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, a menudo su producción está restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies [25]. Se ha observado que las especies vegetales pertenecientes a la familia Asteraceae poseen un gran potencial para controlar malezas mediante la producción de metabolitos secundarios [30]. Las Asteráceas comprenden más de 1700 géneros y unas 24.000-30.000 especies distribuidas por todo el mundo, excepto en la Antártida, que incluyen desde pequeñas hierbas de 1 cm de altura hasta árboles de más de 30 m. Considerando taxones nativos y adventicios, representan la familia vegetal más numerosa en la República Argentina, con 227 géneros, cinco son endémicos y cerca de 1400 especies. De la totalidad de especies 92 son exóticas o adventicias y unas 382 son endémicas; de las especies endémicas un poco menos de la mitad pertenecen al género *Senecio* [31], el cual se destaca por producir importantes compuestos secundarios [32].

A través de distintos estudios se ha podido comprobar la existencia de propiedades alelopáticas en las especies de *Senecio* L. Por ejemplo, se demostró que el aceite esencial que produce *Senecio anteuphorbium* (L.) Sch. Bip. produce inhibición en la germinación de semillas de *Lactuca sativa* L. [33], la especie *Senecio westermanii* Dusén provoca una disminución en el crecimiento de raíces y tallo de *Allium cepa* L. y *L. sativa* [34], *Senecio brasiliensis* (Speng.) Less afecta el desarrollo de las plántulas de *L. sativa* [35]. Sin embargo, poco se conoce sobre las especies de este género nativas de la estepa patagónica. Tanto *Senecio filaginoides* DC. como *S. subumbellatus* Phil. son endémicas en la región, se ha encontrado que la primera tiene la capacidad de inhibir la germinación y restringir el desarrollo de *Lolium multiflorum* Lam. y *Solanum lycopersicum* L. [36].

S. subumbellatus Phil. está distribuida en el norte de la Patagonia Argentina, en las provincias de Chubut, Mendoza, Neuquén, Río Negro y Santa Cruz [37], y en Chile, desde la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins hasta la Región del Biobío; desde el nivel del mar hasta los 2500 m. [38] (Fig.1).



Figura 1: Provincias de la República Argentina y regiones de la República de Chile en donde se distribuye *S. subumbellatus* Phil.

Es un subarbusto de 50 cm, glabro, presenta hojas oblanceoladas, atenuadas en la base, glabras, de borde entero y de disposición alterna. Los capítulos se disponen en cimas corimbiformes densas. El involucreo es acampanado y está formado por 11 a 13 brácteas, tiene 6 mm de alto por 5-6 mm de ancho y presenta un cálculo formado por pocas brácteas. Las flores son amarillas, tubulosas, hermafroditas e isomorfas. El fruto es un aquenio cilíndrico, pubescente con papus de color blanco [39] (Fig.2).



Figura 2: *Senecio subumbellatus* Phil. (a) esquema mostrando las partes áreas a – rama, b – capítulo, c – flor. (b) imagen fotográfica. Fuente: Instituto Darwinion.

La forma más simple para determinar la actividad biológica de una planta es realizar un bioensayo con los extractos obtenidos a partir de sus tejidos [29]. Los bioensayos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos y se valoran comparando el efecto generado en los organismos expuestos al agente con respecto a los no expuestos [40].

El bioensayo de germinación con extracto acuoso de los tejidos vegetales se usa frecuentemente para determinar si las plantas liberan compuestos alelopáticos solubles [41]. La extracción con solventes orgánicos como el etanol, permiten extraer un mayor número de sustancias [42]. Durante el período de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos. Por otra parte, muchas de las reacciones y procesos involucrados son generales para la gran mayoría de las semillas, por lo que la respuesta de esta especie y los datos obtenidos a partir de la aplicación de esta prueba son en gran medida representativos de los efectos en semillas o plántulas en general [43].

La evaluación del efecto en la elongación de la radícula y del hipocótilo de las plántulas permite ponderar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en niveles de concentración tan bajos

que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que, sin embargo, pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo, dependiendo ello del modo y sitio de acción del compuesto. De esta manera, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo constituyen indicadores subletales muy sensibles para la evaluación de efectos biológicos en vegetales, aportando información complementaria a la proporcionada al estudiar el efecto en la germinación [43]. Generalmente, el crecimiento de la radícula muestra mayor sensibilidad a los extractos vegetales fitotóxicos que el crecimiento del tallo, esto se debe a que la radícula es el primer órgano expuesto a las sustancias fitotóxicas y tiene un tejido más permeable que otros órganos. Además, las sustancias fitotóxicas pueden afectar a los genes responsables de la diferenciación celular de tejidos radiculares y del endodermo, inhibiendo su desarrollo [44].

Otro parámetro utilizado en los bioensayos de germinación es el porcentaje de germinación, éste indica la proporción de semillas germinadas con respecto al total en un tiempo dado y permite estimar su viabilidad.

En este trabajo se realizaron bioensayos de germinación y crecimiento, para evaluar las interacciones alelopáticas *in vitro* de los extractos de *Senecio subumbellatus* Phil. y su potencial aplicación como bioherbicidas.

Objetivo general

Evaluar las interacciones alelopáticas *in vitro* de extractos del *Senecio subumbellatus* Phil. con vistas a la potencial aplicación de estas propiedades biológicas como bioherbicidas.

Objetivos específicos

- Analizar el comportamiento de una especie dicotiledónea *Solanum lycopersicum* L. (Tomate) y de una monocotiledónea *Lolium multiflorum* Lam. (Césped) sometidas a la acción de extractos acuosos y etanólicos de *S. subumbellatus* Phil.
- Determinar porcentaje de germinación, desarrollo caulinar y radicular en especies monocotiledónea y dicotiledónea.

Metodología

En este estudio se aplicaron bioensayos que determinan la interferencia de los extractos de *S. subumbellatus* Phil. sobre la germinación y el crecimiento, el primero consistió en registrar el número de semillas que germinaron normalmente, el segundo en la medición de las diferencias de longitud de las raíces, el hipocótilo o la plántula entera.

Como organismo de prueba se utilizaron semillas de una monocotiledónea, *Lolium multiflorum* (Césped), para evaluar los posibles efectos de los extractos sobre las malezas de hoja angosta y una dicotiledónea, *Solanum lycopersicum* (Tomate) para evaluar efectos sobre malezas de hoja ancha. Ambas especies fueron propuestas por Macías como receptoras de actividad alelopática [45], ya que presentan facilidad de germinación y rápido crecimiento [46].

Material vegetal

Se utilizó el material vegetal de *S. subumbellatus* Phil. existente en el laboratorio, colectado en la ciudad de Comodoro Rivadavia, provincia de Chubut, República Argentina; (45°50'17" S 67°30'49" O). Un ejemplar de la especie estudiada fue depositado e identificado en el Herbario Regional Patagónico de la Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud de la UNPSJB, con el número HRP N° 6866.

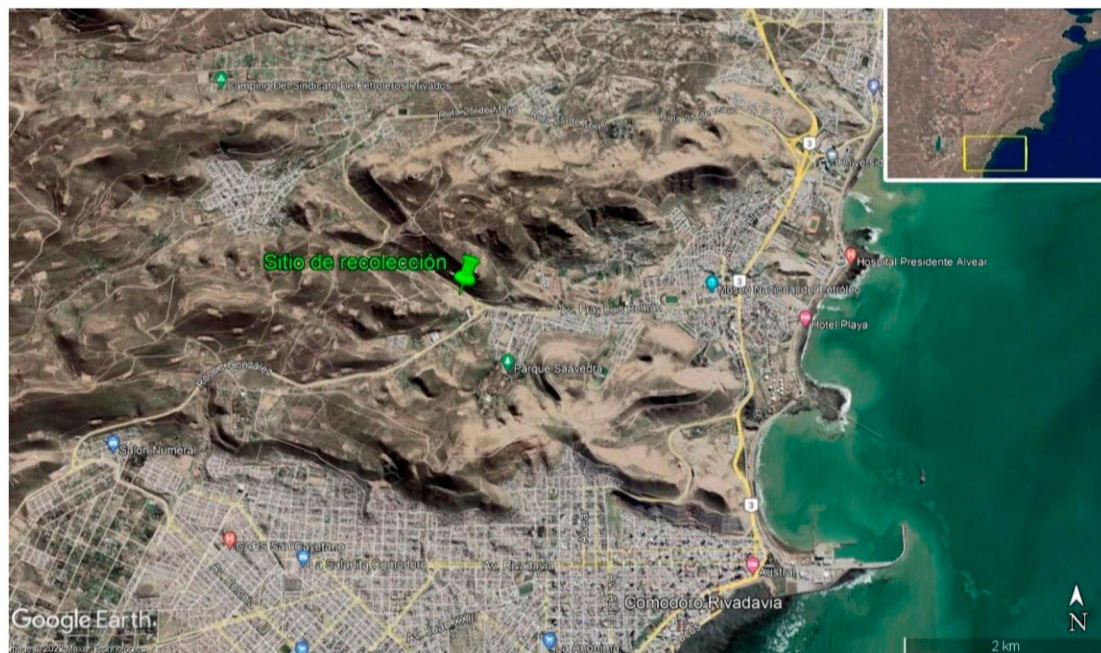


Figura 3: Ubicación del sitio de recolección del material vegetal. El sitio se encuentra próximo a la rotonda que une la avenida Fray Luis Beltrán y el camino Roque González, de la ciudad de Comodoro Rivadavia.

Las semillas de *S. lycopersicum* y *L. multiflorum* fueron obtenidas en el mercado comercial, pertenecen a La Germinadora SA. (www.lagerminadora.com.ar), corresponde a semillas clase identificada, con pureza y germinación establecida por ley y curadas con veneno N° de Lote 92.12.06 y N° de Lote 87.90.11, respectivamente.

Obtención de los extractos alcohólico y acuoso

Los extractos alcohólico y acuoso se obtuvieron de las partes aéreas de las plantas de *S. subumbellatus* Phil., mediante la maceración de material vegetal al 15% con etanol 96% y agua corriente, respectivamente, durante 72 horas en frío. Se utilizó material vegetal compuesto por hojas jóvenes, hojas adultas y ramas no lignificadas, se molió y almacenó para luego ser utilizado. El macerado acuoso se filtró con malla multifilamento y posteriormente con papel de filtro. El macerado alcohólico se filtró del mismo modo y luego, además, se evaporó el solvente por medio de un evaporador rotatorio de vacío, seguido de 24hs en estufa a 35°C. Posteriormente, se resuspendió el extracto seco en agua corriente hasta un volumen total de 100 mL. Ambos extractos se consideraron como soluciones al 100% y se almacenaron en refrigeración y oscuridad hasta su utilización.

Bioensayo

A partir de las soluciones al 100% de los extractos acuoso y etanólico, se prepararon diluciones con agua al 2, 4, 10 y 20% de cada extracto, a fin de realizar dos experimentos de manera consecutiva. Se tomaron 16 mL de cada dilución del extracto acuoso y se vertieron sobre cajas de Petri de 90 mm de diámetro, las cuales contenían algodón y papel de filtro que sirvieron como soporte. Se colocaron 25 semillas de la especie a ensayar por placa, con cinco repeticiones por tratamiento. Un lote de semillas se consideró como el control y fue embebido con 16 mL de agua corriente. Las placas sembradas se colocaron en cámara de germinación a $20 \pm 1^\circ\text{C}$, y se sometieron a un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad, con una intensidad lumínica de $120 \text{ mE}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ durante 15 días [45] (Fig. 4a). Durante ese período, las placas fueron revisadas diariamente a fin de determinar el número de semillas germinadas por día. Al finalizar el experimento se midió el desarrollo de la raíz y el tallo (Fig. 4b). Los datos obtenidos al final de los ensayos fueron el porcentaje final de germinación y la longitud de raíz y tallo (mm) para cada concentración en cada extracto. Una semilla se consideró como germinada cuando la protrusión de la radícula se hizo evidente, en tanto que la medida de la longitud de la radícula se consideró desde el nudo hasta el ápice radicular y el tallo se midió del nudo hasta el ápice de las hojas de la plántula. El mismo experimento se realizó con el extracto etanólico.

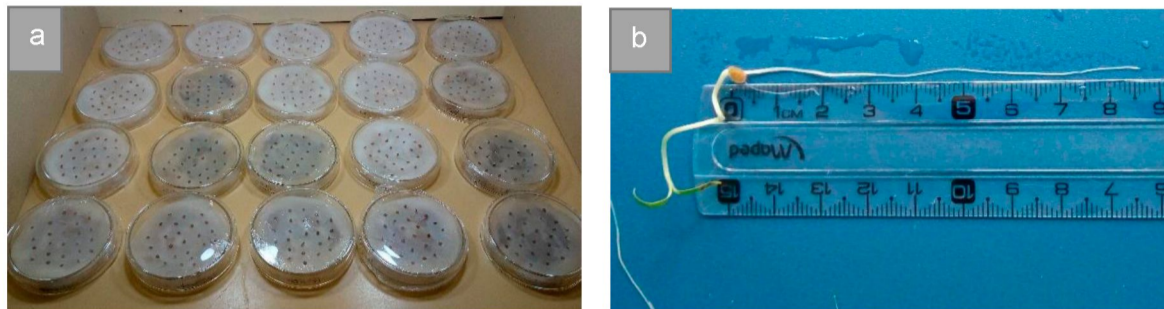


Figura 4: (a) Incubación de semillas en cámara de germinación; (b) Medición de la longitud de las raíces de las plántulas.

Tratamiento estadístico de datos

Para determinar la eficacia de los distintos tratamientos en el proceso de germinación y crecimiento de raíz y tallo *in vitro* se analizaron estadísticamente los resultados obtenidos mediante el test de ANOVA comparado por el test de Tukey y Scheffe usando el software Statistica 7.0 [47].

Resultados y discusión

Germinación

Las semillas de *S. lycopersicum* sometidas a las soluciones de diferentes concentraciones del extracto acuoso de *S. subumbellatus* Phil. mostraron en todos los casos un porcentaje de germinación superior al 94%. Mediante la prueba de ANOVA se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes promedio de germinación ($p > 0,05$). En el tratamiento con extracto etanólico a partir de la solución al 4% los porcentajes de germinación disminuyeron notablemente hasta llegar a la total inhibición en la solución más concentrada, al 20% (Fig. 5a).

Por otro lado, el porcentaje de germinación de las semillas *L. multiflorum* no parecería haber sido afectado por los tratamientos con extractos etanólico y acuoso. La prueba de ANOVA indicó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios determinados ($p > 0,05$). Con ambos extractos todas las concentraciones mostraron porcentajes de germinación superiores al 70%.

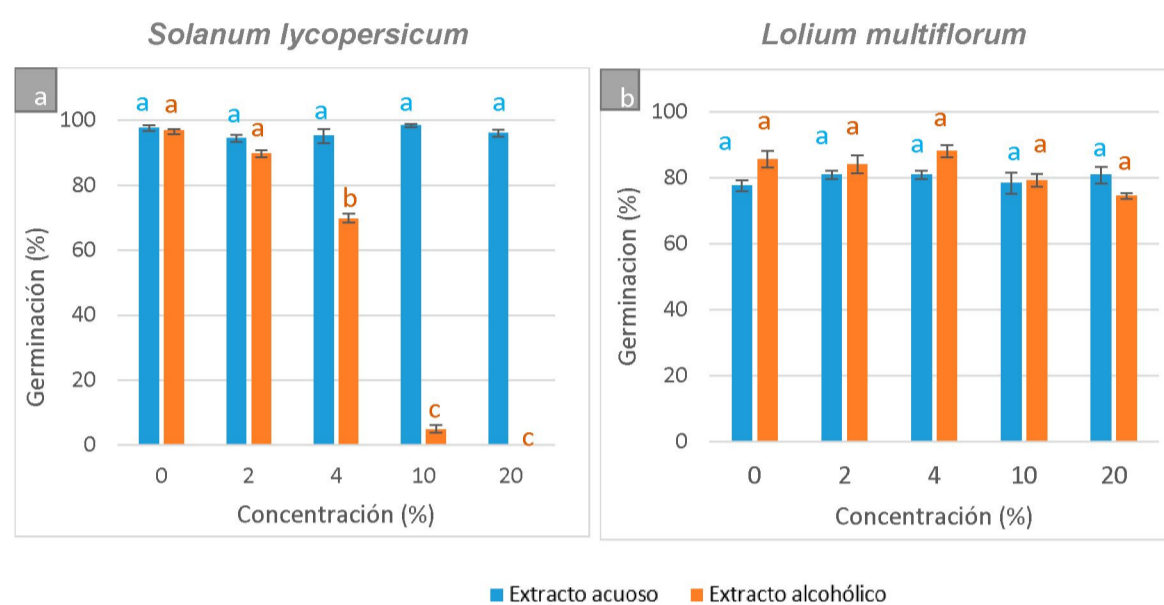


Figura 5: Media \pm error de porcentaje de semillas germinadas en (a) *S. lycopersicum* y (b) *L. multiflorum* observados después del tratamiento con diferentes concentraciones de extracto acuoso y alcohólico de *S. subumbellatus* Phil. Letras iguales no difieren en el test de Tukey ($p > 0,05$).

En los bioensayos realizados también se observa una variación en los tiempos de germinación de las distintas especies sometidas al tratamiento con los distintos extractos. Al tratar las semillas de *S. lycopersicum* con el extracto acuoso, se observó un retraso en la germinación respecto al control, el cual aumentó con la concentración de las soluciones utilizadas. Este retraso se hace más acusado en el tratamiento con extracto alcohólico (Fig. 6a y 6c).

En el gráfico de la figura 6b se observa que el extracto acuoso produjo en *L. multiflorum* un leve retardo de la germinación para la concentración del 20% respecto del control. En el extracto alcohólico, en cambio, los valores del promedio del número de semillas germinadas por día son menores a los del control para todas las concentraciones ensayadas, observándose mayor retraso para el 20% (Fig. 6d).

En un análisis respecto a la influencia de los extractos sobre las especies monocotiledónea y dicotiledónea, se observa que el extracto etanólico produce un retardo mayor en el tiempo de germinación para la especie dicotiledónea (Fig. 6c y d). Con el extracto acuoso no se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre las dos especies (Fig. 6a y b).

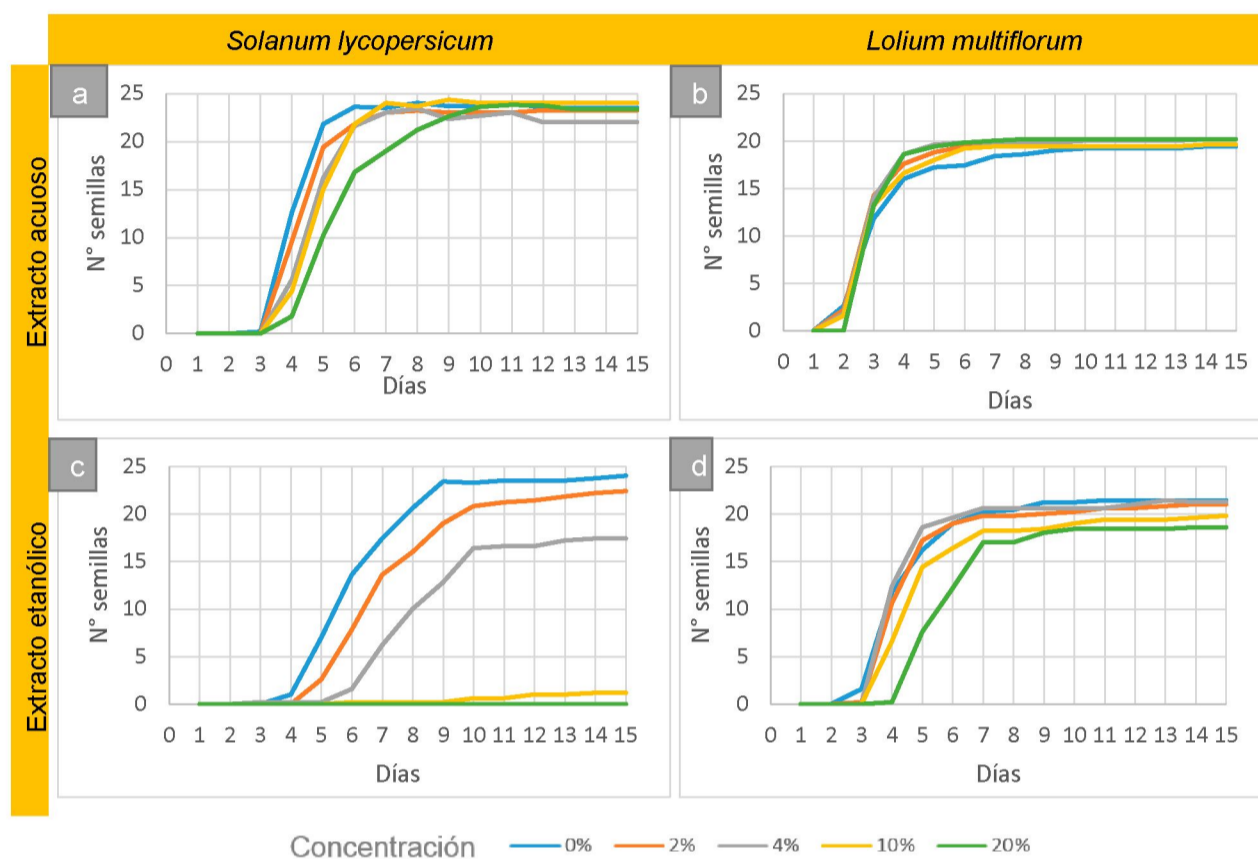


Figura 6: Germinación acumulada en semillas de *S. lycopersicum* y *L. multiflorum* observada después del tratamiento con diferentes concentraciones de extracto acuoso y alcohólico de *S. subumbellatus* Phil. a intervalos de 1 día.

Otros autores han probado los efectos alelopáticos de otras especies usando *S. lycopersicum* como organismo de prueba. Aslani *et al.* [48] ensayaron extractos orgánicos de *Tinospora tuberculata* sobre semillas de tomate y encontraron que, al igual que los extractos etanólicos de *S. subumbellatus* Phil., estos afectaron negativamente la germinación.

Los efectos producidos por el extracto acuoso de *S. subumbellatus* Phil sobre la germinación son similares a los observados en el estudio de Arancibia *et al.* [39] en el cual el extracto acuoso de *S. filaginoides* DC, no presentó actividad alelopática apreciable sobre las semillas de tomate y césped. Por otro lado, en una investigación llevada a cabo por Ouhaddou *et al.* [33] se realizó un bioensayo con semillas de la especie dicotiledónea *L. sativa*, expuestas a diferentes concentraciones de soluciones orgánicas de aceites esenciales extraídos de las partes aéreas de *Senecio anteuphorbium*, se comprobó que los aceites esenciales produjeron un potente efecto de inhibición y retraso en la germinación de las semillas que se intensificó en las soluciones más

concentradas, estos resultados coinciden con los obtenidos en el presente trabajo al tratar la especie dicotiledónea con extracto etanólico de *S. subumbellatus* Phil.

Elongación radicular

En la Figura 7a se presentan los resultados obtenidos para la elongación radicular promedio de las semillas de *S. lycopersicum* sometidas a tratamiento con extracto acuoso y extracto alcohólico, en ambos casos se observa una disminución progresiva de la longitud de las raíces respecto del control, conforme aumenta la concentración de las soluciones ensayadas. En el caso del tratamiento con extracto alcohólico esta disminución fue más pronunciada que para el extracto acuoso, observándose diferencias significativas para todas las concentraciones ($p < 0,05$).

Para *L. multiflorum* en el ensayo con extracto acuoso (Fig. 7b) en la concentración del 2%, 4% y 10% los valores superan a los del control, evidenciando un ligero estímulo en el crecimiento. El tratamiento con extracto alcohólico produjo en las concentraciones 10% y 20% una disminución de la longitud de las raíces.

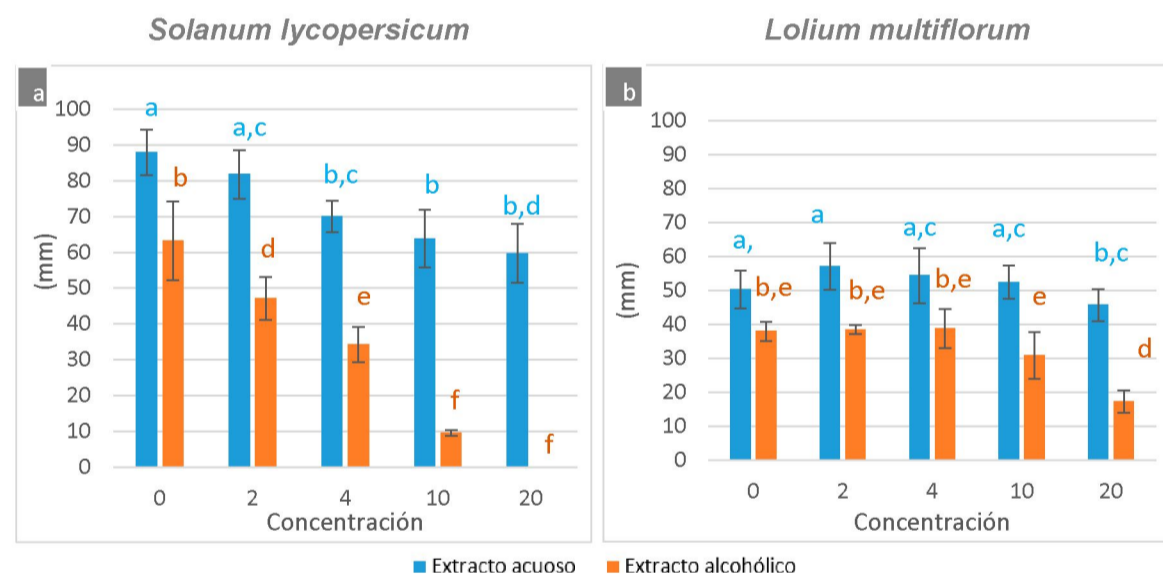


Figura 7: Media \pm error de elongación de la raíz en (a) *S. lycopersicum* y (b) *L. multiflorum*, observados después del tratamiento con diferentes concentraciones de extracto acuoso y alcohólico de *S. subumbellatus* Phil. Letras iguales no difieren en el test de Tukey ($p > 0,05$).

Los resultados obtenidos son similares a los observados en los estudios de González *et al.* [49] y Aslani *et al.* [48], que utilizaron a *S. lycopersicum* como especie de prueba para evaluar los efectos alelopáticos de los extracto acuoso de *Helianthus annuus* L. y de extracto orgánico *Tinospora tuberculata* respectivamente, en ambos casos las plántulas de tomate experimentaron

una reducción de la longitud de la raíz. Asimismo, Chocarro & Lloveras [50] aplicaron un extracto acuoso de la planta entera de *Onobrychis vicifolia* Scop. a las semillas de césped y encontraron que éste produjo una drástica reducción de radículas en las plántulas expuestas.

Por otro lado, se ha registrado que otras especies del genero *Senecio* también producen la reducción de la longitud de las raíces en las especies de prueba. En el estudio realizado por Arancibia *et al.* [39] se observó este comportamiento en las plántulas de semillas de tomate y césped expuestas a extractos de *S. filaginoides* DC. De la misma forma, Merino *et al.* [34] probaron los efectos del extracto etanólico de *S. westermanii* Dusén sobre semillas de *L. sativa* y *A. cepa* y se encontró que estas experimentaron una reducción en su longitud radicular, que a diferencia de lo observado en el presente estudio, se hizo más pronunciada en la monocotiledónea.

Elongación del tallo

En cuanto a la elongación del tallo, el extracto acuoso produjo una estimulación del crecimiento de las plántulas de *S. lycopersicum* para todas las concentraciones ensayadas. Se observó que la longitud aumentó en forma proporcional con la concentración hasta alcanzar un máximo en la solución al 10% (Fig. 8a). La exposición al extracto alcohólico tuvo el efecto opuesto, el crecimiento del tallo disminuyó en forma inversamente proporcional a la concentración del extracto.

Las plántulas de *L. multiflorum* exhibieron un comportamiento similar pero más atenuado, tanto para el extracto acuoso como para el extracto etanólico. Para el extracto acuoso se observó un estímulo en el crecimiento de los tallos, siendo significativa la diferencia ($p < 0,05$), respecto del control, para la concentración del 20%. Para el extracto etanólico la disminución de la longitud del tallo se hace significativa al usar concentraciones del 20 % ($p < 0,05$).

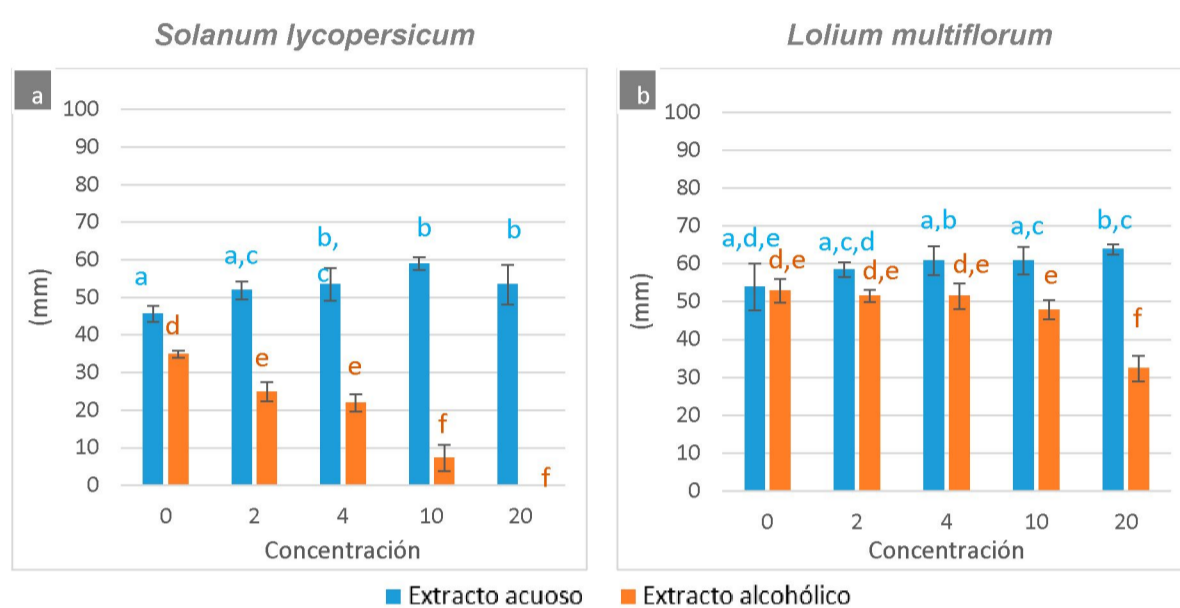


Figura 8: Media \pm error de elongación de tallo en (a) *S. lycopersicum* y (b) *L. multiflorum*, observados después del tratamiento con diferentes concentraciones de extracto acuoso y alcohólico de *S. subumbellatus* Phil. Letras iguales no difieren en el test de Tukey ($p > 0,05$).

En contraste con los resultados obtenidos para este parámetro en el presente estudio, en otros bioensayos las especies de prueba han experimentado una disminución en el crecimiento de sus tallos. Bracho & Arnaud [51] probaron que los extractos acuosos de *Pteridium aquilinum* L. generan la disminución de la acumulación de materia seca en hojas de *S. lycopersicum*. González *et al.* [48] demostraron en su investigación que los extractos acuosos *H. annuus* producen inhibición del crecimiento de hipocótilo de las plántulas de tomate. Aslani *et al.* [48] demostró en su estudio que los tallos de plántulas de *S. lycopersicum* experimentan una reducción en su longitud al ser expuestos a los extractos orgánicos de *T. tuberculata*. Asimismo, Arancibia *et al.* [39] observaron que el extracto etanólico de *S. filaginoides* DC produjo una reducción en la longitud de tallos de las plántulas de tomate y césped. Por su parte, Merino *et al.* [34] demostraron que la longitud de los tallos de plántulas de *L. sativa* y *A. cepa* se ve reducida al exponer estas especies a extractos etanólicos de *S. westermanii* Dusén.

Si bien en este estudio se incluyó la elongación de tallo como un parámetro para evaluar el efecto de los extractos de *S. subumbellatus* Phil., no se puede asegurar que la reducción en el crecimiento de los brotes sea el resultado de la acción directa de los aleloquímicos, o una consecuencia de la reducción en el crecimiento de la raíz [52].

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el extracto acuoso de *Senecio subumbellatus* Phil. no afectó en forma apreciable la germinación de las especies ensayadas, sin embargo, sí influyó en el desarrollo de las plántulas pues estimuló el crecimiento de sus tallos. El extracto etanólico retrasó la germinación de ambas especies de prueba, redujo el porcentaje de germinación de *Solanum lycopersicum* a concentraciones de 4 y 10% y causó su inhibición total al 20%. Además, la longitud de raíces y tallos de *S. lycopersicum* se redujo progresivamente al aumentar la concentración del extracto etanólico, en tanto que *Lolium multiflorum* experimentó un leve estímulo en el crecimiento de sus raíces con las concentraciones al 2 y 4%, y una ligera reducción en la longitud de sus tallos en la concentración al 20%.

Por lo anterior, se concluye que la especie más afectada por los extractos de *S. subumbellatus* Phil es *S. lycopersicum* y que es el extracto etanólico en altas concentraciones el que ha manifestado mayor potencial alelopático.

Este estudio constituye un primer acercamiento hacia la investigación sobre uso de extractos *S. subumbellatus* como potencial bioherbicida, los resultados obtenidos sugieren la utilidad de llevar a cabo futuras investigaciones que evalúen el uso del extracto etanólico para el manejo de especies dicotiledóneas. Se sugiere que las futuras investigaciones en la temática se orienten a identificar los componentes del extracto responsables de los efectos alelopáticos.

Bibliografía

- [1] del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). [Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud](#). *Revista Cubana de Higiene y epidemiología*, 52(3), 372-387.
- [2] Labrada, R., Caseley J.C. & Parker, C. (1996) Manejo de Malezas para Países en Desarrollo. (Estudio FAO Producción y Protección Vegetal - 120), Capítulo 1, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Capítulo 1. El control de malezas en el contexto del manejo integrado de plagas. Revisado 4/7/2022 <https://www.fao.org/3/T1147S/t1147s05.htm>
- [3] Labrada, R., Caseley J.C. & Parker, C. (1996) Manejo de Malezas para Países en Desarrollo. (Estudio FAO Producción y Protección Vegetal - 120), Capítulo 1, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Capítulo 10. Herbicidas. Revisado 4/7/2022 <https://www.fao.org/3/T1147S/t1147s0e.htm>
- [4] Baldi Coronel, B., Vallejos, O., Pancrazio, G., López Müller, N., Goldaracena, C., & Taus, M. R. (2014). [Empleo de la abeja melífera como bioindicador de la contaminación ambiental con herbicidas en áreas cultivadas con soja en la Prov. de Entre ríos y su relación con el contenido residual en la miel](#). *Ciencia, Docencia y Tecnología Suplemento*, 4 (4), 89-114.
- [5] Gutiérrez, H., & Arregui, M. C. (2000). [Comportamiento de herbicidas en suelos, agua y plantas](#). *Revista FAVE*, 14(1), 73-89.
- [6] Keikotlhaile, B. M., & Spanoghe, P. (2011). [Pesticide residues in fruits and vegetables](#). *Pesticides—formulations, effects, fate, 2011*, 243-252.
- [7] Alonso, L. L., Demetrio, P. M., Etchegoyen, M. A., & Marino, D. J. (2018). [Glyphosate and atrazine in rainfall and soils in agroproductive areas of the pampas region in Argentina](#). *Science of the Total Environment*, 645, 89-96.
- [8] Lozano, V. L. (2020). [Estudio del impacto de la mezcla de los herbicidas glifosato y 2, 4-D sobre comunidades microscópicas de agua dulce y la calidad del agua: aproximación ecotoxicológica en microcosmos y mesocosmos al aire libre](#) (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires).
- [9] Relyea, R. A. (2005). [The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities](#). *Ecological applications*, 15(2), 618-627.
- [10] Alvarez, M., Gimenez, I. T., Saitua, H., Enriz, R. D., & Giannini, F. A. (2012). [Toxicidad en peces de herbicidas formulados con glifosato](#). *Acta toxicológica argentina*, 20(1), 5-13.

- [11] Silveyra, G. R., Canosa, I. S., Rodriguez, E. M., & Medesani, D. A. (2017). [Effects of atrazine on ovarian growth, in the estuarine crab *Neohelice granulata*](#). *Comparative biochemistry and physiology part C: toxicology & pharmacology*, 192, 1-6.
- [12] Svartz, G. V., Herkovits, J., & Pérez-Coll, C. S. (2012). [Sublethal effects of atrazine on embryo-larval development of *Rhinella arenarum* \(Anura: Bufonidae\)](#). *Ecotoxicology*, 21(4), 1251-1259.
- [13] Reindl, A. R., Falkowska, L., & Grajewska, A. (2015). [Chlorinated herbicides in fish, birds and mammals in the Baltic Sea](#). *Water, Air, & Soil Pollution*, 226(8), 1-8.
- [14] Shaw, C. M., Lam, P. K., & Mueller, J. F. (2008). [Photosystem II herbicide pollution in Hong Kong and its potential photosynthetic effects on corals](#). *Marine pollution bulletin*, 57(6-12), 473-478.
- [15] Kleijn, D., & Snoeiijing, G. I. J. (1997). [Field boundary vegetation and the effects of agrochemical drift: botanical change caused by low levels of herbicide and fertilizer](#). *Journal of Applied Ecology*, 1413-1425.
- [16] Egan, J. F., Bohnenblust, E., Goslee, S., Mortensen, D., & Tooker, J. (2014). [Herbicide drift can affect plant and arthropod communities](#). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 185, 77-87.
- [17] Carpenter, D., Boutin, C., & Allison, J. E. (2013). [Effects of chlorimuron ethyl on terrestrial and wetland plants: Leves of, and time to recovery following sublethal exposure](#). *Environmental Pollution*, 172, 275-282.
- [18] Boutin, C., Strandberg, B., Carpenter, D., Mathiassen, S. K., & Thomas, P. J. (2014). [Herbicide impact on non-target plant reproduction: what are the toxicological and ecological implications?](#). *Environmental Pollution*, 185, 295-306.
- [19] Taylor, R. L., Maxwell, B. D., & Boik, R. J. (2006). [Indirect effects of herbicides on bird food resources and beneficial arthropods](#). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116(3-4), 157-164.
- [20] Longhi, F., & Bianchi, S. (2020). [Soja, glifosato y salud humana. Algunas evidencias en el Chaco Seco Argentino \(1990-2012\)](#). *Revista Geográfica de América Central*, (65), 145-174.
- [21] González, X. A., Ronquillo-Cedillo, I., Ávila-Nájera, D. M., Rodríguez-Hernández, C., Pedraza-Mandujano, J., & Martínez-Jiménez, D. L. (2021). [Riesgos a la salud por el uso de herbicidas](#). *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*, 10(1), 23-33.
- [22] Oliveros-Bastida, A. D. J. (2008). [El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales](#). *Química viva*, 7(1), 2-34.

- [23] Nigam, R. (2015). [Biopesticide: An Ecofriendly Approach For Second Green Revolution in Agriculture](#). In *Proceeding of the UGC Sponsored National Seminar on "The role of biology in bringing second green revolution"* (p. 14).
- [24] Kumar V. (2015). A review on efficacy of biopesticides to control the agricultural insect's pest. *International Journal of Agricultural Science Research* Vol. 4(9), pp. 168-179.
- [25] García, A. Á., & Carril, E. P. U. (2011). [Metabolismo secundario de plantas](#). *Reduca (biología)*, 2(3).
- [26] Tucat, G., Merced Mujica, M. D. L., Rodríguez, G., Bentivegna, D., Torres, Y., Montenegro, O., ... & Fioretti, M. N. (2013). [Efecto fitotóxico de *Baccharis ulicina* sobre la germinación y crecimiento inicial de *Avena sativa*, *Lolium perenne* y *Raphanus sativus*](#). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 45(1), 0-0.
- [27] Pudelko, K., Majchrzak, L., & Narożna, D. (2014). [Allelopathic effect of fibre hemp \(*Cannabis sativa* L.\) on monocot and dicot plant species](#). *Industrial Crops and Products*, 56, 191-199
- [28] Zamorano, C. (2006). [Alelopatía: un nuevo reto en la ciencia de las arvenses en el trópico](#). *Agron*, 14(1), 7-15.
- [29] Leicach, S. (2006). *Alelopatía. Interacciones químicas en la comunicación y defensa de plantas*. Eudeba, 160, 109-110.
- [30] Murillo, E., & Pérez, C. A. (2005). [Efecto alelopático de la fracción clorofórmica de *Lagascea mollis* cav.\(Asteraceae\) sobre la germinación y el crecimiento radicular de *Oryza sativa* L.](#) *Vitae*, 12(1), 63-71.
- [31] Katinas, L., Gutiérrez, D. G., Grossi, M. A., & Crisci, J. V. (2007). [Panorama de la familia Asteraceae \(= Compositae\) en la República Argentina](#). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 42(1-2), 113-129.
- [32] Merino, F. J. Z. [Estudo morfoanatômico, fitoquímico, farmacológico e biológico das partes aéreas de *Senecio westermanii* Dusén \(Asteraceae\)](#). [34] Blanco, Y. (2006). [La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas](#). *Cultivos tropicales*, 27(3), 5-16.
- [33] Ouhaddou, S., Aghraz, A., Ben Bakrim, W., Sissi, S., Larhsini, M., Markouk, M., ... & Vadalà, R. (2022). [Analysis of volatiles in *Senecio anteuphorbium* essential oil with a focus on its allelopathic effect by means of gas chromatography](#). *Separations*, 9(2), 36.
- [34] Merino, F. J. Z., Ribas, D. F., Silva, C. B. D., Duarte, A. F. S., Paula, C. D. S., Oliveira, M. D., ... & Miguel, O. G. (2018). [A study of the phytotoxic effects of the aerial parts of *Senecio westermanii* Dusén \(Asteraceae\) on *Lactuca sativa* L. and *Allium cepa* L. seeds](#). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54.

- [35] da Cruz-Silva, C. T. A., Santorum, M., & Bini, F. V. (2009). [Efeito alelopático de extratos aquosos de *Senecio brasiliensis* \(Spreng\) Less sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas](#). *Revista Cultivando o Saber*, 2(1), 62-70.
- [36] Arancibia, L. A., Henriquez, A. M., & Marchiaro, A. B. (2020). [Senecio filaginoides DC as a Source of Allelopathic Agents and Its Possible Use as a Bioherbicide](#). *Asian Research Journal of Current Science*, 101-107.
- [37] Instituto de Botánica Darwinion. Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur, Detalle de la Especie *Senecio subumbellatus* Phil. var. *subumbellatus*. Revisado 2/12/22. <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=subumbellatus&subespecie=&especie=subumbellatus&genero=Senecio&espcod=17699>
- [38] Tortosa, R. D., & Bartoli, A. (2010). [Consideraciones taxonómicas en especies de *Senecio de Argentina*](#). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 45(3-4), 373-381.
- [39] Arancibia, L. A. (2013). Estudio químico y actividad biológica de derivados sesquiterpénicos presentes en especies patagónicas del género *Senecio*. Tesis presentada a la facultad de ciencias naturales en cumplimiento de los requisitos para optar al grado académico de doctor en farmacia.
- [40] Ronco, A., Díaz Báez, M. C., & Pica Granados, Y. (2004). Conceptos generales. [Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones](#), Castillo Morales (Ed.), 17, 76.
- [41] Ahmed, M., & Wardle, D. A. (1994). [Allelopathic potential of vegetative and flowering ragwort \(*Senecio jacobaea* L.\) plants against associated pasture species](#). *Plant and soil*, 164(1), 61-68.
- [42] de la Cruz, R. (1987). [Alelopatía en el manejo de malezas](#). Manejo Integrado de Plagas y Agroecología Número 06 (diciembre 1987).
- [43] Sobrero, M. C., & Ronco, A. (2004). [Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga \(*Lactuca sativa* L.\)](#). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 63-70.
- [44] Hasan, M., Ahmad-Hamdani, M. S., Rosli, A. M., & Hamdan, H. (2021). [Bioherbicides: an eco-friendly tool for sustainable weed management](#). *Plants*, 10(6), 1212.
- [45] Macías, F. A., Molinillo J. M. G., Galindo J. C. G., Valera R. M., Torres A. & Simonet A. M. (1999) en *Biologically Active Natural Products: Agrochemicals*. (H. G. Cutler y S. J. Cutler Eds), CRC Press, London, 15-31.
- [46] Fletcher, J. S., Muhitch, M. J., Vann, D. R., McFarlane, J. C., & Benenati, F. E. (1985). [PHYTOX database evaluation of surrogate plant species recommended by the US](#)

[Environmental Protection Agency and the Organization for Economic Cooperation and Development](#). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 4(4), 523-532.

[47] StatSoft, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.

[48] Aslani, F., Juraimi, A. S., Ahmad-Hamdani, M. S., Omar, D., Alam, M. A., Hashemi, F. S. G., ... & Uddin, M. K. (2014). [Allelopathic effect of methanol extracts from *Tinospora tuberculata* on selected crops and rice weeds](#). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B–Soil & Plant Science*, 64(2), 165-177.

[49] González Perigó, Y., Pino Pérez, O., Leyva Galán, Á., Antonioli, Z. I., Arévalo, R. A., Gómez Matos, Y., & Pavón Rosales, M. I. (2015). [Efecto de extractos acuosos de *Helianthus annuus* Lin. sobre el crecimiento de *Solanum lycopersicum* Lin.](#) *Cultivos Tropicales*, 36(4), 28-34.

[50] Chocarro, C., & Lloveras, J. (2012). [Efecto alelopático de la esparceta \(*Onobrychis viciifolia* Scop.\) sobre diferentes especies forrajeras](#). Rosa María Canals Tresserras, Leticia San Emeterio Garcandía (eds): *Nuevos retos de la ganadería extensiva: un agente de conservación en peligro de extinción= Abeltzaintza estentsiboaren erronka berriak: galtzeko arriskuan dagoen kontserbazio eragilea. 51 Reunion Científica de la SEEP. Pamplona, 14-18 de mayo de 2002.*

[51] Bracho, B. C., & Arnaud, O. (2012). [Efecto de extractos acuosos de *Pteridium aquilinum* L. Kuhn var. *Caudatum* sobre el crecimiento de plántulas de *Solanum lycopersicum* L.](#) *Agronomía Tropical*, 62(1-4), 039-050.

[52] Oliveira, S. C. C., Ferreira, A. G., & Borghetti, F. (2004). [Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. \(Solanaceae\) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. \(Pedaliaceae\) sob diferentes temperaturas](#). *Acta Botanica Brasilica*, 18, 401-406.