



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

Tesis de grado

Licenciatura en Protección y Saneamiento Ambiental

**Propiedades alelopáticas de extractos de
Senecio subpanduratus O. Hoffm.
y su posible aplicación como bioherbicida**

Alumna: Tec. Apraiz Emilia Loreto

Directora: Dra. Marchiaro Alicia Beatriz

Co-Director: Lic. Facundo Maldonado

2023



AGRADECIMIENTOS

Después de tanto tiempo, tantos altos y bajos, este es el último escalón para finalizar una gran etapa de mi vida. Hace un millón de años que comencé a cursar (en realidad fue mucho menos, pero por momentos se me hizo eterno), y ahora lo siento tan lejano. Cada experiencia nos deja un aprendizaje, cada vuelta de la vida nos deja un poquito más sabios. Estos últimos años han sido difíciles en varios aspectos, pero sólo queda aprender y seguir.

Agradezco a la vida por haberme puesto como la primera nieta de la abuela Tena, una mujer hermosa, fuerte, sabia, una cocinera tremenda, amorosa, pilla y bardera a la vez. Nunca vas a dejar de ser mi ejemplo a seguir, gracias por tanto abu linda, te tengo en mi corazón siempre.

Agradezco enormemente la compañía de Maxi, mi compañero de vida hace ya otro millón de años. Gracias amor por tus valiosos aportes en la tesis, pero además, por tu paciencia, por todo, por lo que fue y por lo que vendrá. Por ser tan gran persona, por tu compañía y aprendizajes, por estar en cada momento que necesité un abrazo, por ser siempre mi contención y por haberme dejado entrar a tu vida, para formar juntos nuestro lindo hogar. Todas las palabras se quedan cortas, en serio, gracias!

Agradezco a mi familia, por los lindos momentos vividos y por haber compartido tantos años de sus vidas conmigo. Agradezco a mi suegra, que es una genia y siempre está acompañándonos y pendiente de todo para, si es necesario, ayudar. A la familia de mi novio que me banca en todas, ya son parte de mi corazón hace muchísimo, y a mis sobris hermosas que me llenan el alma con cada momento compartido.

Agradezco el aguante, la paciencia y el afecto que me brindaron cada una de las personas que hicieron que la uni valga la pena. A Gian, por ser un eternoceptor de mis mates siempre lavados, siempre cómplice ñoño en cada trabajo que hicimos juntos. A Eve, mi tóxica de maldades, que a pesar de que a lo primero no nos registrábamos todo fue más lindo y copado con su presencia. A Vane, que a pesar de seguir distintos caminos pudimos lograr que la amistad persista, gracias por ser tan buena piba y por compartir siempre. A Mica, por ser una de las personas más nobles y dulces que conocí, siempre con buena onda y viendo el lado positivo de todo. A todos los que empezaron y formaron parte de tardes enteras de mateadas en el comedor, las juntadas en las gamelas, los primeros parciales: Agus, Lean, Nacho, Ala, Ceci, y Fabrizioo.

Agradezco eternamente a la Dra. Alicia Marchiaro por la confianza que depositó en mí, por todas las sogas, ayudas, enseñanzas y respuestas a mis preguntontas. Una persona que merece mención aparte, siempre atenta y brindando soluciones. Sin ella, esta tesis no hubiera quedado tan linda!

Agradezco a la Mag. Adriana Mangani por invitarme a formar parte de la cátedra, siempre con buena onda y matecitos de por medio. Al Lic. Facundo Maldonado por estar siempre a disposición, mates o cafecito de por medio, por ser un gran compañero de trabajo y por sus aportes a esta tesis, que considero muy valiosos. Al Lic. Alberto Saiz por ser siempre parte de la solución, y a Bianca por hacernos siempre el aguante y bancar los trapos, este proceso fue un poquito más ameno gracias a esas lindas charlas.

Agradezco a todos los profes que fueron formadores con vocación, y a quienes se pusieron la camiseta en plena pandemia, peleando con la virtualidad y adaptándose para poder seguir enseñando y estando siempre a disposición de nosotros, los alumnos. Ya saben quienes son, gracias!

Por último, no puedo dejar afuera a otros compañeros que estuvieron en cada momento de mi carrera, brindando su amor y absorbiendo las malas energías cuando estuve estresada: Luna, Jack, Tomy, Kitty, Lola, Gilly, Mish, Tyrion, Odin y Canela, gracias por ser tan tan buenos, y enseñarme la incondicionalidad del amor.

A TODOS, GRACIAS!



INTRODUCCIÓN

Desde fines del siglo XVII se produjo la llamada Revolución Agrícola, que se caracterizó por un rápido y masivo crecimiento de la producción agraria, lo que aumentó considerablemente la oferta de alimentos (Bellis, 2020). Este proceso se basó, fundamentalmente, en la implementación de rotaciones de cultivo, mejores herramientas agrícolas, nuevos cultivos, abonos y la expansión de la superficie cultivada (Andrade, 2020).

A fines del siglo XVIII, cuando la población mundial era de aproximadamente 900 millones de habitantes (Caldwell & Schindlmayr, 2002), Malthus (1798) predijo hambrunas generalizadas y una consecuente reducción demográfica al observar que el crecimiento poblacional superaba a la producción de alimentos. Malthus argumentaba que la mayor disponibilidad de alimentos producía un incremento en el crecimiento poblacional, lo que a su vez generaba mayores demandas de alimentos y nuevas hambrunas. Luego ocurrió que la disponibilidad de alimentos aumentó conjuntamente con el crecimiento poblacional (Rasmuson & Zetterström, 1992), por lo cual no sucedieron las hambrunas generalizadas predichas por Malthus, quien no había tenido en cuenta el aporte de la innovación tecnológica en la oferta de alimentos (Andrade, 2020).

Satisfacer las demandas alimentarias de la creciente población requirió un importante aumento de la superficie cultivada y la utilización de nuevas prácticas agrícolas, en algunos casos, basadas en el uso de insumos químicos. Durante el siglo XIX se difundió la utilización de fertilizantes para solucionar los problemas del agotamiento de nutrientes de los suelos. Liebig & Gerhardt (1841) demostraron que las plantas se nutren de soluciones minerales del suelo, y desarrollaron las bases para la utilización de fertilizantes en los cultivos, siendo la disponibilidad de fertilizante nitrogenado sintético barato uno de los pilares de la futura revolución verde (Andrade, 2020).

A fines del siglo XIX comenzaron a surgir en Europa los primeros plaguicidas, cuyo uso masivo recién se daría a partir de mediados del siglo XX (Mann & Mann, 2013). Sin embargo, los nuevos sistemas productivos eran inestables y generaban diversos problemas ambientales. A pesar de ello, esta fue una etapa de producción agrícola extensiva de bajos insumos químicos, por lo que el impacto ambiental global fue moderado, principalmente asociado a deforestaciones, inundaciones, agotamiento de nutrientes y erosión de los suelos (Andrade, 2020).

La producción de los cultivos se incrementó de manera consistente durante las últimas 6 décadas, principalmente por un aumento en los rendimientos por unidad de superficie como consecuencia del proceso denominado Revolución Verde (Borlaug, 2007). La Revolución Verde se dio por la conjunción de innovaciones con una fuerte sinergia: disponibilidad de fertilizante nitrogenado relativamente barato, cultivos con mayor potencial de rendimiento y con genes de tolerancia a enfermedades, y nuevos herbicidas (Evans, 1997; Borlaug, 2007). Esto generó problemas de contaminación de suelos y aguas, emisiones de gases de efecto invernadero, sobreexplotación de recursos hídricos, y salinización y sodificación del suelo, debido al uso incorrecto y masivo de insumos químicos y del riego (Rockström *et al.*, 2009; Gordon *et al.*, 2017).

En los últimos años, el sector agropecuario latinoamericano ha experimentado importantes transformaciones en sus sistemas productivos agrícolas, con un notable avance hacia la difusión de sistemas de creciente tecnificación, que incluyen el uso de materiales transgénicos, la adopción de nuevas estrategias de siembra, elevado requerimiento de productos químicos como fertilizantes y plaguicidas, el uso intensivo de conocimientos y el apoyo en tecnologías de la información. Estos sistemas presentan tanto aspectos positivos como aspectos negativos, y entre estos últimos cabe mencionar el aumento de la contaminación por el uso abusivo de agroquímicos, el avance de la degradación y erosión de los suelos, la deforestación y pérdida de biodiversidad (Pórfido *et al.*, 2014).



Inserto en el contexto latinoamericano, desde finales de la década del 80 a la actualidad, la Argentina duplicó su cosecha de granos debido al empleo de nuevas tecnologías, fundamentalmente el uso masivo de la siembra directa, acompañada tanto por nuevas estrategias biotecnológicas, como por la aparición de nuevas maquinarias agrícolas, nuevos sistemas de riego, fertilizantes y plaguicidas (Pórfido *et al.*, 2014). Los plaguicidas configuran un aspecto central de las prácticas agrícolas, siendo la región pampeana argentina la responsable de alrededor del 60% de la producción agrícola nacional. El importante crecimiento agropecuario de las últimas décadas ha sido impulsado por el aumento de la demanda exterior de sus productos, con la soja en el primer lugar, representando el 28% de las exportaciones. Además, Argentina posee la mayor producción mundial de granos *per cápita* (Butinof *et al.*, 2017).

El uso de productos químicos para la protección de los cultivos es de especial importancia para mantener la sanidad y la calidad de las cosechas, pero deben aplicarse de manera tal que no contaminen los cultivos, ni el ambiente, y que tampoco pongan en peligro la salud de los trabajadores (Díaz, 2008). El fenómeno de agriculturización, que es un proceso de expansión agrícola, dio lugar a un uso intensivo de herbicidas para el control de malezas, acompañado de la aplicación de volúmenes crecientes de plaguicidas (Butinof *et al.*, 2017).

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos (FAO, 1997). Estas sustancias son o pueden ser tóxicas para el ser humano por encima de ciertos valores, y pueden alterar el ambiente. La contaminación con plaguicidas ha adquirido relevancia mundial al tomar la población conciencia de los riesgos potenciales y reales a los que está expuesta ante el uso masivo e inadecuado de plaguicidas (Quargnolo *et al.*, 2013).

Los plaguicidas presentan múltiples clasificaciones en función de sus características principales, como ser su toxicidad aguda, su vida media, su estructura química y su uso o actividad biológica. En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda, la cual se define como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un período de tiempo relativamente corto (Ramírez & Lacasaña, 2001; del Puerto Rodríguez *et al.*, 2014; Organización Mundial de la Salud, 2019).

De acuerdo con su uso o actividad biológica pueden clasificarse según el organismo sobre el cual actúan, en insecticidas, herbicidas, acaricidas, fungicidas, y raticidas, entre otros (Sánchez Martín & Sánchez Camazano, 1985; Badii & Landeros, 2007).

Actualmente, el control de las malezas se realiza principalmente mediante el uso de herbicidas químicos (Roncal *et al.*, 2010), y es una de las principales herramientas en la agricultura moderna (Robles & Esquivel, 2006). Un herbicida es un producto químico que inhibe o interrumpe el crecimiento y desarrollo de una planta, y suelen utilizarse en la agricultura, industria y en zonas urbanas, de hecho, si son manipulados adecuadamente proporcionan un control eficiente de malezas a un bajo costo (Robles y Esquivel, 2006; Peterson *et al.*, 2010).

El empleo masivo de dichos compuestos ha causado la aparición de diversos problemas, tales como el desarrollo de resistencias, la reaparición de malezas, la contaminación ambiental, los riesgos para la salud humana y los elevados costos de producción de las cosechas (Roncal *et al.*, 2010). Por este motivo, es necesario buscar soluciones alternativas y desarrollar nuevos métodos de protección de cultivos para aumentar la sostenibilidad del proceso, siendo una alternativa viable el uso de bioherbicidas.



Los bioherbicidas se pueden definir como agentes de origen biológico para el control de plagas en plantas (Waller, 2004; Macedo, 2007; Wandscheer & Pastorini, 2008), y se basan en compuestos producidos por organismos vivos (Soltys *et al.*, 2013). Como ventajas principales frente a los herbicidas químicos, se destaca su alta especificidad frente a las malezas, su inocuidad frente a animales y otros organismos, la ausencia de efectos adversos sobre el ambiente al ser biodegradables y no tóxicos, y la ausencia de aparición de resistencias (Chou, 1989; Jarvis, 2001; Roncal *et al.*, 2010; Marchiaro *et al.*, 2017).

De esta forma, en la búsqueda de nuevas alternativas en el control de plantas indeseables para los cultivos, se pensó en aprovechar el fenómeno denominado alelopatía (De Oliveira *et al.*, 2017). Este término fue utilizado por primera vez por Molisch (1937), quien la define como los efectos perjudiciales o benéficos que son directa o indirectamente el resultado de la acción de compuestos químicos que una planta desprende al ambiente, y que afectan el crecimiento de otras plantas que viven en el mismo hábitat o en un hábitat cercano (Canihuante Suarez, 2012).

Se sabe que ciertas plantas pueden ser tóxicas, liberar principios alergénicos, irritantes para la piel o activos frente a nuestro olfato. Sin embargo, resulta menos conocida la capacidad alelopática que tienen las plantas para liberar químicos que influyen en el crecimiento y la distribución de otros organismos vegetales, lo que también se incluye en la alelopatía (Leicach, 2006). En todo fenómeno alelopático existe una planta denominada donora, que libera compuestos químicos al ambiente por una determinada vía (por ejemplo: lixiviación, descomposición de residuos, etc.), los cuales al ser incorporados por otra planta (planta aceptora) provocan un efecto perjudicial o benéfico sobre germinación, crecimiento o desarrollo de esta última (Sampietro, 2001).

Según Macías (1995), como especie aceptora se puede utilizar cualquier maleza o cultivo; a su vez, explorando el posible uso de agentes alelopáticos como bioherbicidas, también señaló que las malezas más comunes pertenecen a las familias Compositae, Umbeliferae, Verbenaceae, Cruciferae, Solanaceae, Liliaceae y Gramineae.

Las sustancias químicas responsables del fenómeno de alelopatía son generalmente denominadas aleloquímicos o agentes alelopáticos, y son compuestos que se sintetizan en las plantas como metabolitos secundarios que no parecen tener un papel directo en su crecimiento y desarrollo (Singh *et al.*, 2001). Los aleloquímicos son liberados al ambiente por órganos vegetales como raíces, rizomas, hojas, tallos, corteza, flores, frutos y semillas (Figura 1). El enorme número de interacciones alelopáticas en general son de carácter negativo para la especie aceptora, siendo raras las relaciones positivas (Soltys *et al.*, 2013).

Los compuestos alelopáticos pueden afectar a la germinación y el crecimiento de las plantas vecinas mediante la alteración de diversos procesos fisiológicos, como la fotosíntesis, la respiración, la absorción de agua y nutrientes, y el equilibrio hormonal. La capacidad de un aleloquímico para inhibir o retrasar el crecimiento de las plantas y/o la germinación de las semillas suele definirse como *potencial alelopático*. La fuerza de las interacciones alelopáticas puede ser muy variable (Figuras 2 y 3), debido a las modificaciones que los aleloquímicos sufren en el suelo (Soltys *et al.*, 2013).

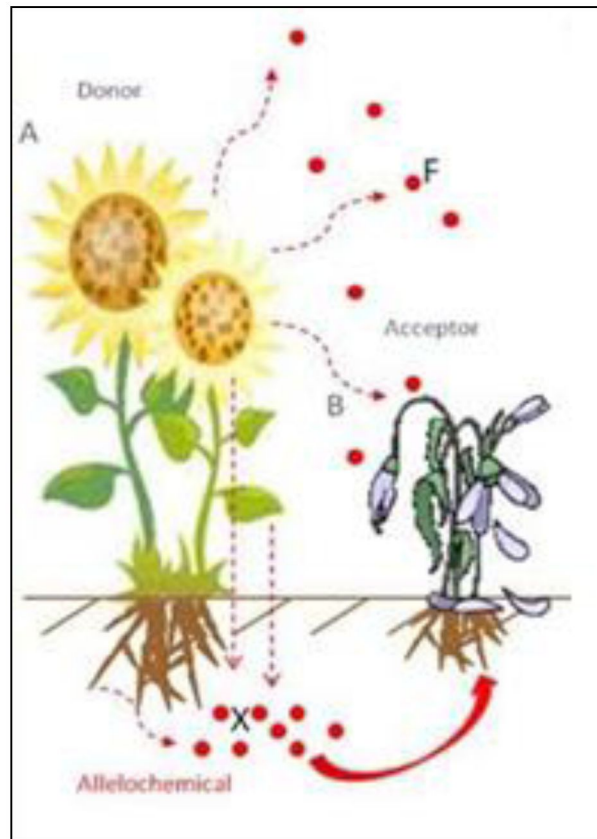


Figura 1. La planta A libera los aleloquímicos X y F que afectan directamente al crecimiento de la planta B (Soltys *et al.*, 2013).

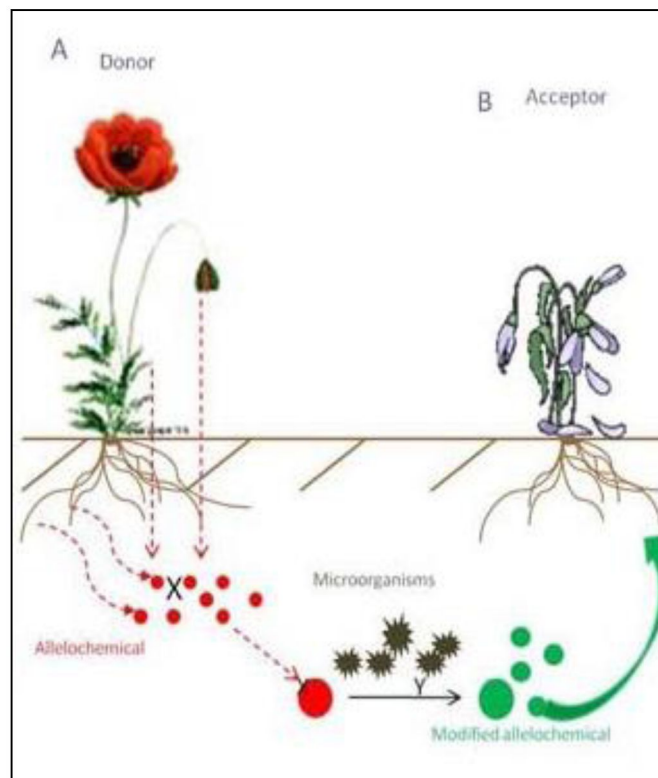


Figura 2. La planta A libera el aleloquímico X, que es modificado o activado por microorganismos en el aleloquímico Y, que afecta al crecimiento de la planta B (Soltys *et al.*, 2013).

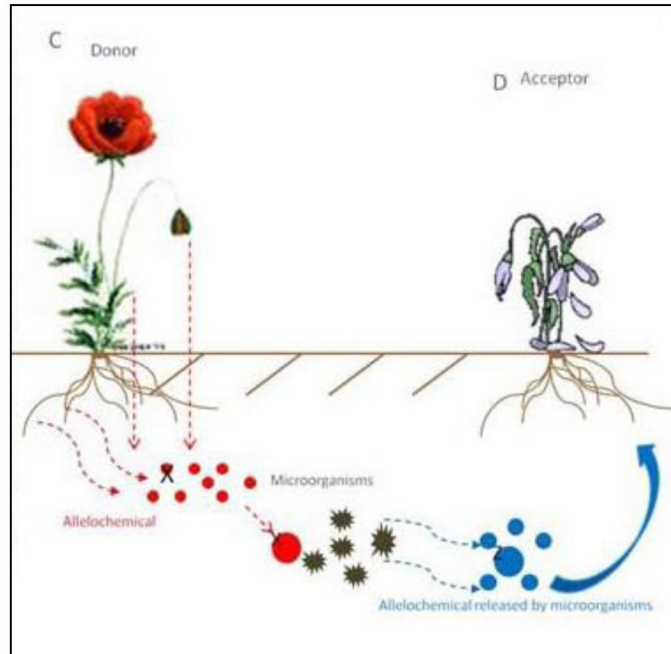


Figura 3. La planta C libera el aleloquímico X que estimula a los microorganismos a producir el aleloquímico Z, que afecta al crecimiento de la planta D (Soltys *et al.*, 2013).

Las plantas aromáticas, conocidas por ser ricas en principios activos, pueden desempeñar un papel importante en las interacciones planta-planta, además, constituyen una fuente primaria de potenciales aleloquímicos (De Feo *et al.*, 2002; Vokou, 2005; Marchiaro *et al.*, 2017). Por ese motivo, los constituyentes del género *Senecio*, perteneciente a la familia de las Asteraceae, característica de la zona patagónica, se presentan como una posible alternativa ante los compuestos químicos tradicionales (Marchiaro *et al.*, 2017).

El género *Senecio* presenta alrededor de 3000 especies dispersas en todo el mundo, principalmente en áreas montañosas (Arancibia *et al.*, 2010) y registra en la Argentina alrededor de 270 especies cuya distribución mayoritaria se encuentra en la cordillera de los Andes y en la Patagonia (Cabrera, 1971). *Senecio subpanduratus* O. Hoffm. (Figura 4) es un arbusto bajo, ramoso, glabérrimo, de cerca de 0,5 m de altura. Sus ramas son erectas, redondeadas, hojosas hasta la inflorescencia (Figura 5). Es una especie endémica, no palatable, característica del estrato arbustivo-subarbustivo, y se desarrolla en los bordes de los mallines del departamento Escalante, al Sur-Este de la provincia de Chubut, Argentina (Gratti *et al.*, 2014).



Figura 4. Ejemplar de *Senecio subpanduratus*.

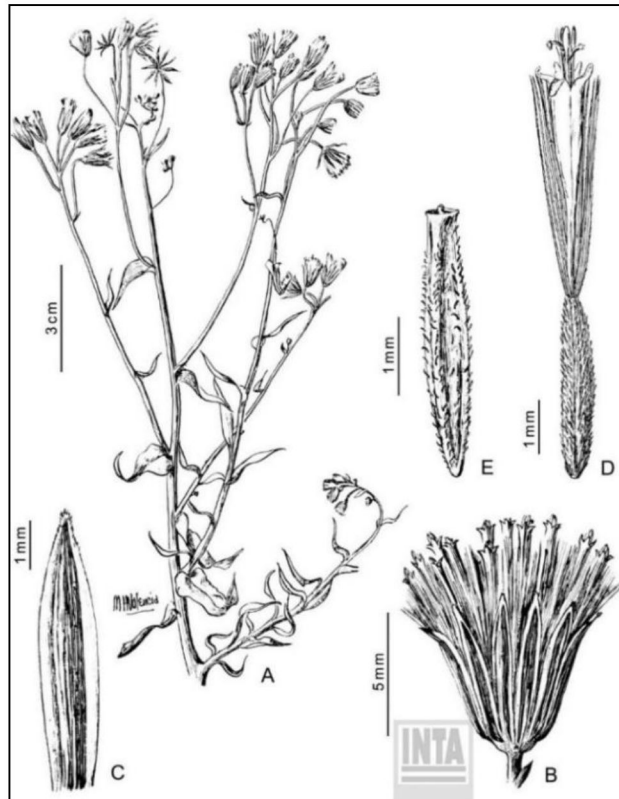


Figura 5. Ilustraciones de *Senecio subpanduratus*. Referencias: A. Rama florífera. B. Capítulo. C. Filario. D. Flor. E. Aquenio (Instituto de Botánica Darwinion, 2018).

A fin de determinar tanto el potencial alelopático de un compuesto o de un extracto vegetal, como así también el riesgo ambiental asociado, se utilizan bioensayos. Un bioensayo es un procedimiento que se realiza para evaluar la actividad biológica, la presencia o la cantidad de una sustancia (tóxico, antibiótico, etc.) mediante la medida de sus efectos sobre un organismo vivo (Repetto *et al.*, 1995). Los bioensayos de laboratorio con plantas constituyen una excelente herramienta y son de gran utilidad, pero en última instancia deben ir seguidos de ensayos en invernadero o sobre el terreno para comprobar si las observaciones son reproducibles o extrapolables al medio natural (Inderjit & Weston, 2000; Vyvyan, 2002). En particular, se recomienda la utilización de semillas de plantas vasculares en bioensayos debido a su mayor sensibilidad con respecto a plantas no vasculares, y frente a la presencia de sustancias tóxicas, permitiendo evaluar los efectos adversos sobre la germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento (Young *et al.*, 2012; Pentreath *et al.*, 2015). En los estudios alelopáticos, los ensayos de germinación y los de crecimiento de plántulas son ampliamente utilizados debido a que son sencillos y permiten una evaluación rápida, económica y pertinente de la respuesta de una especie vegetal frente a un agente alelopático determinado (Duke *et al.*, 2000; Sampietro, 2001; Vyvyan, 2002).

A través del presente trabajo se realizó un bioensayo de alelopatía. Se investigó la actividad inhibitoria de la germinación de extractos etanólicos y acuosos de *S. subpanduratus* como agentes alelopáticos, utilizando como especiesceptoras una monocotiledónea perteneciente a la familia Poaceae (semillas de *Lolium multiflorum* Lam. - Césped), y una dicotiledónea perteneciente a la familia Solanaceae (semillas de *Solanum lycopersicum* L. - Tomate).

La determinación de las posibles interacciones alelopáticas de extractos del género *Senecio*, se espera sean una contribución útil para desarrollar nuevas estrategias biológicas para lograr una agricultura libre de sustancias agroquímicas de síntesis y difícil biodegradabilidad, logrando productos amigables con el ambiente.



ANTECEDENTES

Este trabajo de tesis se realizó en el marco del Proyecto de Investigación “Estudios preliminares para la evaluación de interacciones alelopáticas de extractos del género *Senecio* (Asteraceae) con potenciales aplicaciones como herbicidas” (10E/152).

El grupo de investigación en el que se desarrolló el trabajo, estudia las distintas propiedades del género *Senecio* desde hace más de 20 años (Arancibia *et al.*, 2000; 2010; 2018). En los últimos proyectos el estudio se orientó hacia las posibles interacciones alelopáticas de este género en busca de una aplicación como herbicidas amigables con el ambiente (Henríquez, 2019; Arancibia *et al.*, 2020; Pailacura, 2022). A fin de hacer una evaluación de dichas interacciones, se está realizando un screening utilizando extractos de distintas especies del género *Senecio*. Los experimentos están programados para desarrollarse a distintos niveles, en primer término, se realizan *in vitro*, luego serán *in vivo* para culminar con evaluaciones mediante experiencias de campo. Si las evaluaciones resultaran positivas, los estudios continuarán hacia la identificación de los aleloquímicos presentes en los extractos y responsables de la acción bioherbicida.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Evaluar potenciales acciones bioherbicidas a través de las propiedades alelopáticas *in vitro* de extractos de *Senecio subpanduratus*.

Objetivos específicos

- Analizar el efecto inhibitorio de extractos acuosos de *S. subpanduratus* sobre una especie monocotiledónea (*Lolium multiflorum*, césped) y otra dicotiledónea (*Solanum lycopersicum*, tomate) mediante la determinación del porcentaje de germinación, el crecimiento radicular y caulinar.
- Analizar el efecto inhibitorio de extractos etanólicos de *S. subpanduratus* sobre *L. multiflorum*, césped y *S. lycopersicum*, tomate, mediante la determinación del porcentaje de germinación, el crecimiento radicular y caulinar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal a utilizar

El material vegetal de *S. subpanduratus* utilizado se recolectó en la ciudad de Comodoro Rivadavia (45°50'17" S, 67°30'49" O), provincia de Chubut, República Argentina y estuvo compuesto por hojas y ramas no lignificadas de los individuos recolectados. Se trabajó siempre con la misma muestra para todos los ensayos, a fin de reducir las posibles fuentes de variabilidad en la producción de metabolitos secundarios que pudieran afectar los resultados de los experimentos alelopáticos, tales como diferencias en el desarrollo de órganos vegetales, variación estacional, daños químicos o mecánicos, clima, contaminación, enfermedades, entre otras (Figueiredo *et al.*, 2008).

Luego de recolectado, fue almacenado a temperatura ambiente, en un ambiente seco y oscuro, a fin de obtener un peso seco estabilizado. Además, un ejemplar fue depositado e identificado en el Herbario Regional Patagónico de la Facultad de Ciencias Naturales de la UNPSJB, bajo el número de herbario HRP 6867.

Se utilizaron para los bioensayos semillas de una especie monocotiledónea (*Lolium multiflorum* – césped) y una dicotiledónea (*Solanum lycopersicum* - tomate), las cuales fueron obtenidas en el mercado comercial, cuyo comercializador es La Germinadora S.A. (www.lagerminadora.com.ar). Los lotes utilizados fueron el Lote N° 87.90.11 y el Lote N° 92.12.06, respectivamente (Figura 6).



Figura 6. Semillas de *L. multiflorum* y *S. lycopersicum*.

Obtención del extracto alcohólico y acuoso

Los extractos etanólico y acuoso se obtuvieron a partir de la maceración al 15% de las partes aéreas de las plantas de *S. subpanduratus* (Macías, 1995; Mazzafera, 2003; Marchiaro *et al.*, 2017). La utilización de un determinado disolvente determina la clase de aleloquímicos que se extraen (Hoagland & Williams, 2004), por lo que en este trabajo se utilizan dos disolventes de uso habitual con distintas propiedades extractivas.

Para la obtención del extracto etanólico se pesaron 15 g del material vegetal en la balanza analítica OHAUS Explorer (Figura 7), a los cuales se les agregó 85 g de alcohol etílico para análisis (Biopack) al 96% y se dejó macerar por 72 horas en frío y oscuridad. Una vez transcurrido ese lapso de tiempo, se procedió a una filtración con malla multifilamento y luego con papel de filtro Whatman 110 mm, grado 102 (Figura 7).



Figura 7. Izquierda: Pesaje de material vegetal en balanza analítica OHAUS Explorer. Derecha: equipo de filtración utilizado para la obtención de los extractos.



Para eliminar completamente el solvente, el volumen obtenido de las filtraciones fue llevado a un evaporador rotatorio de vacío (Yamato RE300). Luego, se colocó el concentrado obtenido en la estufa a 50°C (Figura 8) hasta alcanzar sequedad total, garantizando así que no existan cantidades de alcohol que puedan interferir en los bioensayos. Posteriormente, el concentrado se resuspendió en agua potable de red hasta obtener 100 mL de solución, la cual se consideró como “solución madre” del extracto etanólico. Se utilizó agua potable de red a fin de reproducir posibles condiciones futuras, ya que se prevé que las diluciones de los extractos sean preparadas a gran escala. Entonces, considerando una vasta producción de los extractos y su aplicación como bioherbicida en campo, la preparación será más práctica, económica y sencilla con una base de agua potable de red que con agua destilada.

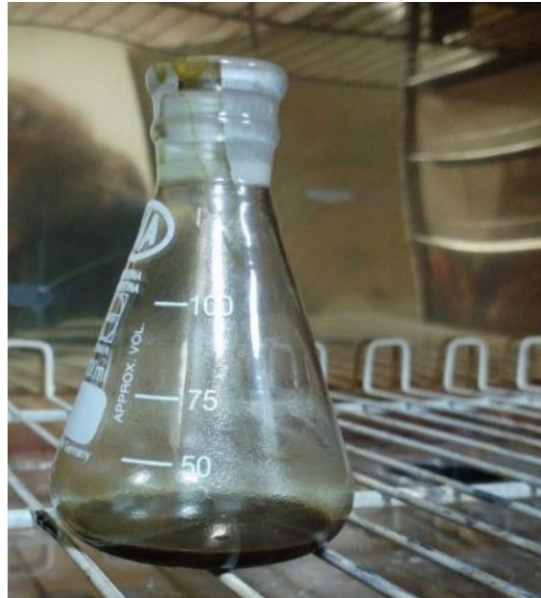


Figura 8. Concentrado obtenido luego de la eliminación del solvente en evaporador rotatorio de vacío en estufa.

Para el extracto acuoso se pesaron 15 g del material vegetal almacenado en el laboratorio y se le agregó 85 g de agua potable de red, esto se dejó macerar por 72 horas en frío y oscuridad. Posteriormente, el macerado obtenido se filtró primero con malla multifilamento y luego con papel de filtro en equipo de filtración. La solución resultante se llevó a 100 mL con agua potable de red, a fin de obtener la “solución madre” del extracto acuoso.

De esta forma, se obtuvieron los extractos al 100%, los cuales quedaron almacenados en refrigeración hasta el momento de ser utilizados (Macías, 1995; Mazzafera, 2003; Marchiaro *et al.*, 2017). A partir de las soluciones madres se realizaron las diluciones correspondientes para obtener concentraciones al 2, 4, 10 y 20%, además de utilizar agua potable de red para los ensayos control.

Bioensayo

En el presente trabajo se utilizó un bioensayo basado en la germinación de semillas de *L. multiflorum* (césped) y de *S. lycopersicum* (tomate), luego se midió el crecimiento radicular y caulinar para evaluar los efectos alelopáticos de los extractos etanólicos y acuosos de *S. subpanduratus*. Previo a dar inicio a cada bioensayo, se realizó una prueba con agua potable de red para evaluar el poder germinativo de las semillas a emplear.

Las unidades experimentales fueron placas de Petri de 90 mm de diámetro (Figura 9) donde se colocaron 25 semillas por placa, las cuales se trataron con 15 mL de extracto etanólico y acuoso a las distintas concentraciones (2, 4, 10 y 20%), obtenidas mediante diluciones realizadas a partir de las soluciones madres de los extractos. Como ensayo control, se embebieron 25 semillas con 15 mL de agua potable de red. Las placas se prepararon con algodón cubierto con papel de filtro.

Todas las semillas se colocaron en las cajas de Petri, y una vez tapadas, se recubrieron en papel de film a fin de evitar la pérdida de humedad. Cada uno de los tratamientos, incluido el ensayo control, se realizaron con cinco repeticiones para cada especie en estudio (Macías, 1995; Mazzafera, 2003).

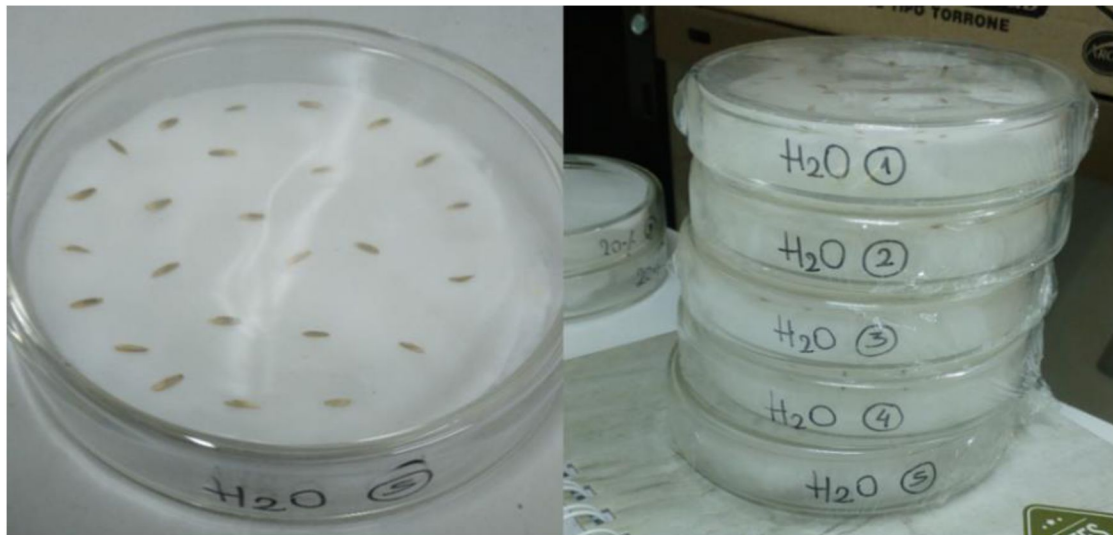


Figura 9. Unidades experimentales del bioensayo: placas de Petri de 90 mm, con algodón y papel de filtro como soporte para las semillas a utilizar.

Las placas sembradas se colocaron en cámaras de germinación (Figura 10) a $20 \pm 1^\circ\text{C}$, y se sometieron a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad, durante 14 días, con una intensidad lumínica de $120 \text{ mE}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Las placas fueron revisadas diariamente para detectar el momento de la germinación. Las semillas se consideraron germinadas cuando la emergencia de la radícula fue de 5 mm (Bewley & Black, 1985).

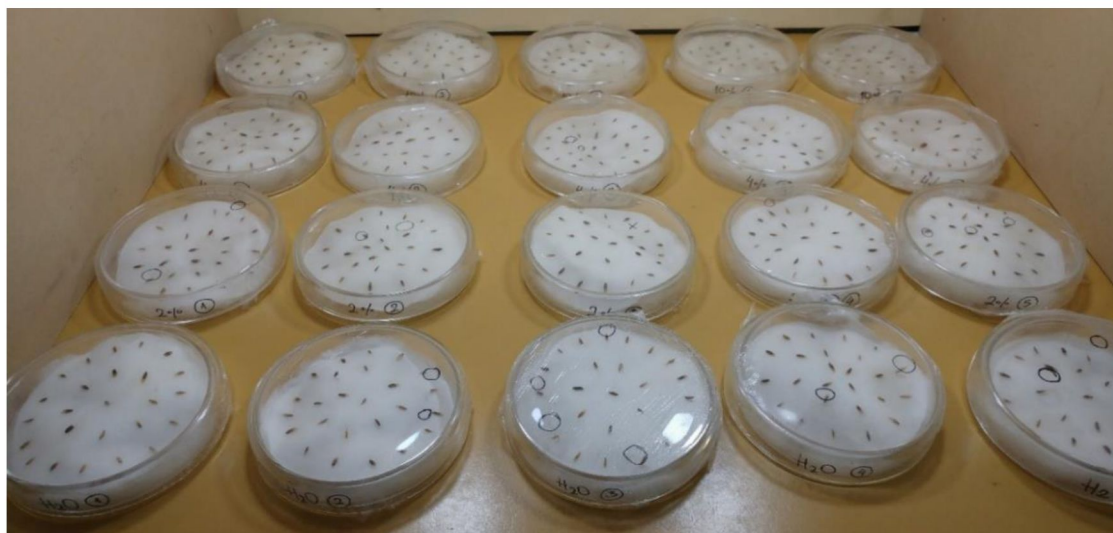


Figura 10. Unidades experimentales con semillas de *L. multiflorum* en cámara de germinación.

Luego de 14 días se dio por finalizado el experimento (Figuras 11, 12, 13) y se determinó el porcentaje de germinación y el crecimiento de cada plántula, cuantificando la longitud radicular y caulinar (Inderjit & Dakshini, 1995; Marchiaro *et al.*, 2017).

Cada ensayo fue realizado de manera consecutiva, primero el tratamiento con el extracto etanólico y luego el tratamiento con el extracto acuoso, en semillas de *L. multiflorum* y de *S. lycopersicum*, por lo cual el procedimiento se llevó a cabo en cuatro oportunidades diferentes.

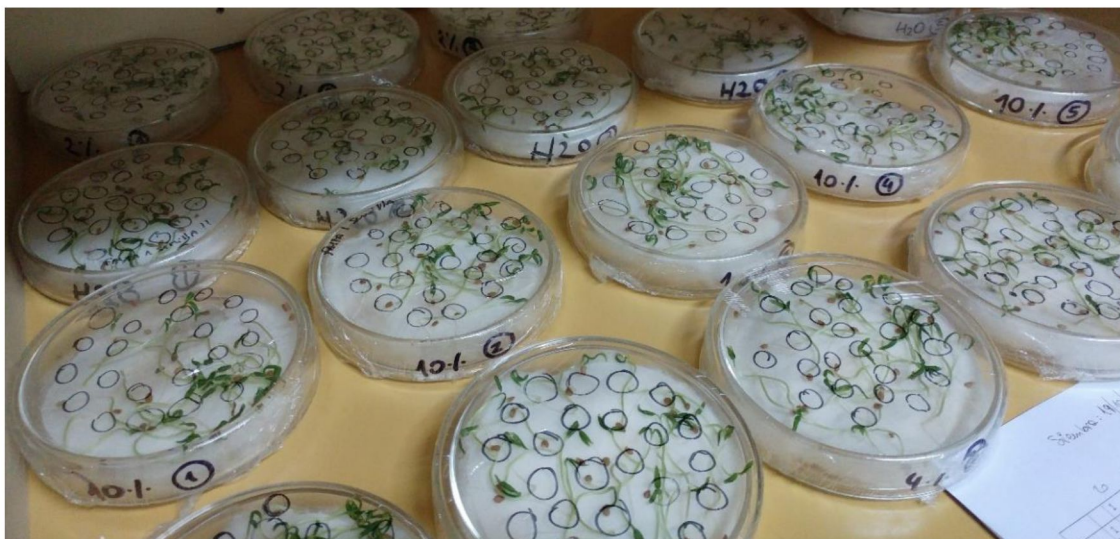


Figura 11. Unidades experimentales con plántulas de *S. lycopersicum* a los 14 días del experimento.



Figura 12. Plántulas de *S. lycopersicum* el día de finalización del experimento (día 14) luego del tratamiento con extracto etanólico de *S. subpanduratus*, previo a realizar las mediciones de elongación radicular y caulinar.



Figura 13. Medición de la elongación caulinar de una plántula de *S. lycopersicum*.



Tratamiento estadístico de datos.

Con el fin de evaluar la incidencia de los extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus* y sus distintas concentraciones sobre el porcentaje de germinación, la elongación radicular y de tallos luego de los tratamientos utilizados en las especies aceptoras, se aplicó el Análisis de la Varianza de una vía ($\alpha=0,05$), para evaluar si hay diferencias significativas y el test de Tukey ($\alpha=0,05$) para determinar cuáles fueron las diferencias significativas entre los resultados obtenidos. Todo esto fue llevado a cabo utilizando el programa STATISTICA 7.0 (StatSoft, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Germinación

Para evaluar los posibles efectos alelopáticos de los extractos de *S. subpanduratus*, se utilizó el porcentaje de germinación, que es un parámetro que hace referencia a la proporción de las semillas germinadas respecto del total en un período de tiempo determinado. Esta información puede indicar la capacidad inhibitoria o de estimulación del extracto (Arancibia *et al.*, 2020). Los resultados obtenidos en las pruebas de poder germinativo de ambos lotes de semillas se presentan en la siguiente tabla (Tabla 1).

Tabla 1. Porcentajes de germinación obtenidos en las pruebas de poder germinativo.

	Repeticiones	Porcentaje de Germinación (%)	SD	PROMEDIO
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomate)	1	96	0,5	97,6
	2	100		
	3	100		
	4	96		
	5	96		
<i>Lolium multiflorum</i> (césped)	1	96	0,8	95,2
	2	92		
	3	92		
	4	96		
	5	100		

Las pruebas de poder germinativo se realizaron para verificar que cada lote de semillas tenga un porcentaje de germinación superior al 90% (Sobrero & Ronco, 2004), por lo cual a través de estos resultados se pudo comprobar que las semillas a utilizar en los bioensayos eran viables.

1.1. *Lolium multiflorum*

En las pruebas de germinación realizadas con el extracto acuoso de *S. subpanduratus* sobre *L. multiflorum* (Figura 14), el Test de Tukey reveló que no hay diferencias significativas entre las distintas concentraciones testeadas, por lo que no se puede determinar ningún tipo de interacción a pesar de las diferencias que se observan en la gráfica ($p>0,05$).

Al aplicar el extracto etanólico sobre semillas de césped se observó que, en general, el porcentaje de semillas germinadas no presenta diferencias significativas según el Test de Tukey ($p>0,05$) en la mayoría de las concentraciones utilizadas, salvo en las placas al 20% del extracto. Esto quiere decir que en estas placas (20%) hubo variaciones significativas en los valores obtenidos con respecto a las demás concentraciones ensayadas y al control ($p<0,05$), por lo que la disminución en el porcentaje de germinación podría reflejar una posible interacción alelopática.



Al comparar los efectos de ambos extractos utilizados sobre *L. multiflorum* en lo relativo al porcentaje de germinación no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las distintas concentraciones aplicadas y respecto del control, excepto para la concentración del extracto etanólico al 20%, donde hubo una evidente disminución del porcentaje de germinación.

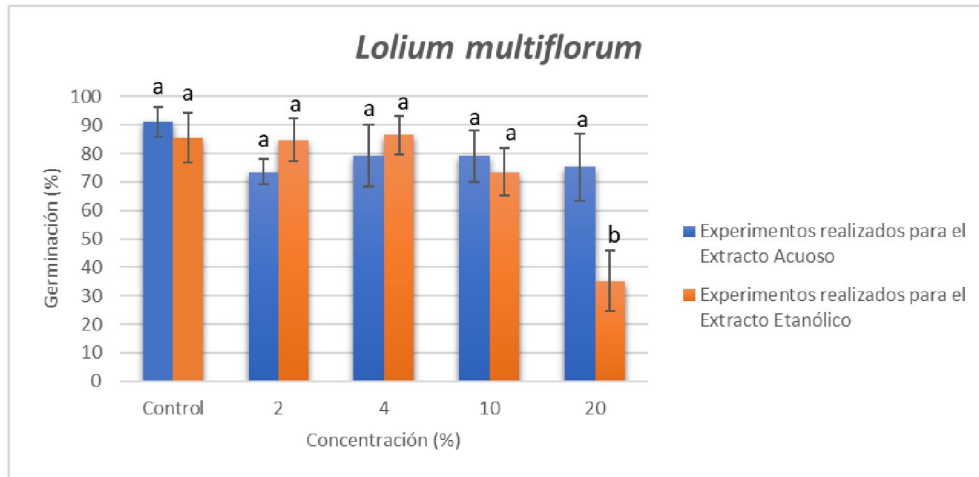


Figura 14. Promedio \pm Desviación estándar de porcentajes de germinación de semillas de *L. multiflorum* frente al control y las diferentes concentraciones de extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus* testeadas. Letras iguales no difieren en la prueba de Tukey ($p > 0,05$).

Ferreira & Aquila (2000) afirman que las pruebas de germinación, en general, son menos sensibles que las que evalúan el desarrollo de las plántulas, como la masa o la longitud de la radícula o de la parte aérea. Esto se debería a que, a diferencia de la prueba tradicional de germinación de semillas, 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 pueden retardar o inhibir completamente los procesos de elongación de la radícula o del hipocótilo (Sobrero & Ronco, 2004).

Al igual que en el presente estudio, Henriquez (2019), utilizando extractos acuosos de *Senecio filaginoides* DC al 2, 4, 10 y 20%, no obtuvo diferencias significativas en los porcentajes de germinación de *L. multiflorum* respecto del control. Por otro lado, con el extracto etanólico a las mismas concentraciones, observó una disminución exponencial en el porcentaje de germinación conforme aumentaba la concentración del extracto, hasta alcanzar una inhibición total utilizando el extracto al 20%.

Pailacura (2022), utilizando extractos acuosos y etanólicos de *Senecio subumbellatus* Phil. al 2, 4, 10 y 20% sobre semillas de *L. multiflorum*, no obtuvo variaciones significativas en lo relativo al porcentaje de germinación, mientras que, en el presente trabajo, con el tratamiento con extracto etanólico al 20% hubo diferencias significativas. Además, en el trabajo de Pailacura (2022) también se menciona que el porcentaje de germinación siempre estuvo por encima del 70%, lo que coincide en la mayoría de los resultados obtenidos en este trabajo, a excepción del valor promedio al utilizar el extracto etanólico al 20%, donde el promedio de germinación fue de 35,2%.

Lo antes mencionado también es concordante con lo que señalan Marchiaro *et al.* (2017) al testear extractos etanólicos al 2, 5 y 10% de *Senecio filaginoides* DC sobre semillas de césped, donde obtuvieron que los porcentajes de germinación disminuyen al 5 y 10%, conforme aumenta la concentración del extracto.

Evaluando las interacciones alelopáticas de extractos acuosos de hojas de *Senecio brasiliensis* Spreng al 10, 20, 30, 40 y 50% sobre una monocotiledónea (*Zea mays* L. - maíz), da Cruz-Silva *et al.* (2009) obtuvieron resultados equiparables a los experimentos aquí presentados, ya que el porcentaje de germinación del maíz no presentó diferencias significativas respecto del control en ninguna de las concentraciones ensayadas.



Por otro lado, y a diferencia de lo obtenido en el presente trabajo, Ahmed & Wardle (1994) investigaron los posibles efectos alelopáticos de lixiviados acuosos de *Senecio jacobaea* L. sobre una monocotiledónea (*Lolium perenne* L.), y obtuvieron que éstos afectaron negativamente al porcentaje de germinación y la velocidad de germinación, evidenciando una inhibición por posible interacción alelopática. También realizaron extractos acuosos a partir de partes aéreas y subterráneas de *S. jacobaea*, las cuales fueron secadas al aire, molidas y mezcladas con agua para obtener concentraciones de 2 y 5% p/v. En estos ensayos observaron que las plantas con flores tuvieron mayor capacidad de inhibir la germinación con respecto a las plantas que aún no estaban en floración, donde los efectos alelopáticos fueron menores. Esto podría indicar que el *S. jacobaea*, tiene el potencial de liberar elevadas cantidades de compuestos tóxicos solubles en agua, en discrepancia con lo observado en el presente estudio, donde los extractos acuosos de *S. subpanduratus* a concentraciones similares no evidenciaron ningún tipo de interacción alelopática sobre la germinación de la especie monocotiledónea.

1.2. *Solanum lycopersicum*

En cuanto al porcentaje de germinación obtenido en el tratamiento con extracto acuoso sobre semillas de *S. lycopersicum* (Figura 15), las diferencias no fueron significativas en las concentraciones de 2, 4 y 10% respecto del control ($p > 0,05$), mientras que, a una concentración del 20%, las diferencias fueron significativas ($p < 0,05$). Además, al utilizarse el extracto acuoso al 20% el porcentaje de germinación presenta una disminución de al menos 3 veces respecto del control, alcanzándose tan sólo un 28% de la germinación, lo cual podría indicar que a dicha concentración ocurran interacciones alelopáticas que podrían inhibir la germinación en las semillas de *S. lycopersicum*.

En lo que respecta al porcentaje de germinación alcanzado en el experimento con el extracto etanólico, en las concentraciones del 4, 10 y 20% las diferencias fueron significativas respecto del control y entre sí ($p < 0,05$). Asimismo, al utilizar el extracto etanólico se logró un efecto inhibitorio muy marcado a medida que aumentaba su concentración, probablemente debido a que el disolvente utilizado tiene la capacidad de extraer sustancias aleloquímicas que podrían generar mayor inhibición en la emergencia de las dicotiledóneas. Como se puede observar en la Figura 15, en el control germinaron el 97,6% de las semillas, mientras que en el tratamiento con el extracto al 10% ese valor disminuyó a un 4,8% de germinación, y al 20% hubo inhibición total.

Además, si se comparan los efectos de los extractos acuoso y etanólico sobre el porcentaje de germinación en *Solanum lycopersicum*, se observa que el extracto etanólico a partir del 4% causó mayor inhibición en la germinación de las dicotiledóneas testeadas que el extracto acuoso (Figura 15).

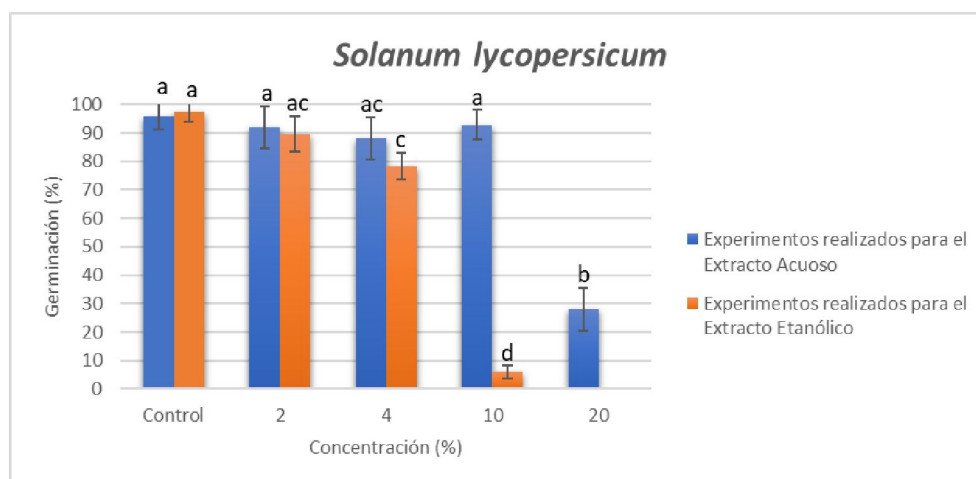


Figura 15. Promedio \pm Desviación estándar de porcentajes de germinación de semillas de *S. lycopersicum* con diferentes concentraciones de extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus*. Letras iguales no difieren en la prueba de Tukey ($p > 0,05$).



Cabe mencionar que Pailacura (2022), aplicando extractos acuosos de *S. subumbellatus* en semillas de *S. lycopersicum*, no obtuvo diferencias significativas en ninguna de las concentraciones utilizadas, donde el porcentaje de germinación siempre estuvo por encima del 94%. En contraste, los resultados obtenidos en el presente trabajo evidencian una disminución en el porcentaje de germinación respecto del control para el extracto acuoso al 20%. Por otro lado, con el extracto etanólico Pailacura (2022) notó una disminución en el porcentaje de germinación a partir de la solución al 4%, alcanzando una inhibición total al utilizar la solución más concentrada (20%), al igual que lo aquí observado. Esto podría indicar que aleloquímicos presentes en los extractos etanólicos tanto de *S. subumbellatus* como de *S. subpanduratus* tendrían el potencial para inhibir la germinación en las concentraciones iguales o superiores al 4%.

A su vez, Marchiaro *et al.* (2017), obtuvieron resultados similares a los aquí presentados al testear semillas de *S. lycopersicum*, con los extractos etanólicos de *S. filaginoides* al 5 y 10%, lo que indicaría una capacidad inhibitoria por parte de los extractos etanólicos de ambas especies de *Senecio* a las concentraciones mencionadas. Los mismos autores también obtuvieron que aplicando el extracto etanólico al 2% no se observó inhibición en la germinación de la especie dicotiledónea, lo cual coincide con el presente estudio.

Henriquez (2019) observó que el extracto acuoso de *S. filaginoides* no presentó diferencias significativas respecto del control al 2 y 4% sobre la germinación de *S. lycopersicum*, coincidiendo con los resultados aquí presentados. Sin embargo, se observan diferencias en lo referente a las concentraciones del 10%, donde Henriquez (2019) observó una disminución significativa, y al 20% donde obtuvo inhibición total. Por otro lado, con el extracto etanólico al 2 y 4% tampoco observó diferencias respecto del control sobre *S. lycopersicum*. Con el extracto etanólico al 10% advirtió una clara disminución en el porcentaje de germinación, alcanzando la inhibición total al 20%, esto último al igual que lo ocurrido en el presente trabajo, lo cual indicaría un posible efecto alelopático de interés sobre la germinación de la especie testada.

Resultados similares a los del presente trabajo aplicando el extracto acuoso de *S. subpanduratus* al 20%, fueron obtenidos por da Cruz-Silva *et al.* (2009), donde el porcentaje de germinación de una especie dicotiledónea (*L. sativa* - lechuga) disminuyó respecto del control con el extracto al 50% de hojas de *S. brasiliensis*.

Ahmed & Wardle (1994) observaron que los extractos de las plantas con flores tuvieron mayor capacidad de inhibir la germinación de las especies dicotiledóneas ensayadas, con respecto a las plantas que aún no estaban en floración, donde los efectos alelopáticos observados fueron menores; mientras que en el presente trabajo el extracto acuoso tuvo un efecto inhibitorio sólo al aplicar el extracto al 20%.

Si se comparan los efectos de los extractos acuosos sobre la germinación en ambas especies testadas, se puede mencionar que hubo un comportamiento similar tanto frente a semillas de *L. multiflorum* como de *S. lycopersicum*, en contraste con el control, salvo al utilizar el extracto al 20% en la especie dicotiledónea. Esto podría indicar que dicha especie es sensible al extracto acuoso a partir de una concentración del 20%, lo cual quizás se deba a que los agentes alelopáticos solubles en agua de *S. subpanduratus*, no tengan incidencia sobre la germinación de la especie monocotiledónea, o bien, que los mismos no se encuentren en concentraciones suficientes como para ocasionar algún efecto inhibitorio comprobable.

En cuanto al extracto etanólico, la especie monocotiledónea presenta diferencias significativas respecto del control sólo al 20%, mientras que en las semillas dicotiledóneas este comportamiento se observa a partir de soluciones al 4%, alcanzándose una inhibición total al 20%, con lo cual se podría suponer que *S. lycopersicum* es más sensible que *L. multiflorum* frente al extracto etanólico.

2. Crecimiento radicular

2.1. *Lolium multiflorum*

La elongación radicular de las plántulas de *L. multiflorum* fue medida luego de 14 días de iniciado el tratamiento con el extracto acuoso, donde hubo diferencias significativas en la longitud de las raíces para concentraciones mayores al 2% ($p < 0,05$) en relación con el control (Figura 16).

Asimismo, la acción del extracto etanólico sobre césped, también provocó una disminución en la longitud radicular para las distintas concentraciones del extracto utilizadas, siendo las diferencias significativas en todas ellas respecto del control ($p < 0,05$). El valor de la longitud radicular luego del tratamiento con el extracto etanólico al 20% se redujo un 94% respecto del obtenido en el control, mientras que con el extracto acuoso al 20% la longitud media se reduce un 35% respecto del control, por lo cual parecería ser que la especie testada (monocotiledónea) es mucho más sensible a las interacciones alelopáticas con los extractos etanólicos que con los acuosos.

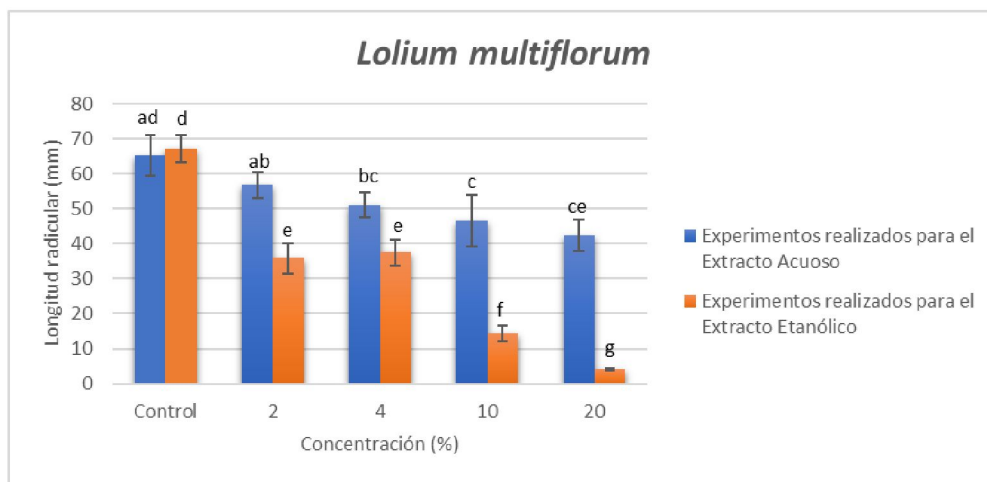


Figura 16. Promedio \pm Desviación estándar de la longitud de raíces de césped obtenidas luego del tratamiento con los extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus*. Letras iguales no difieren en la prueba de Tukey ($p > 0,05$).

En contraste con lo obtenido en este trabajo, Pailicura (2022) pudo advertir que al tratar semillas de césped con extractos acuosos de *S. subumbellatus*, con las concentraciones al 4 y 10% la elongación radicular de las plántulas no varió significativamente respecto del control. Sin embargo, con el tratamiento acuoso al 20% obtuvo una disminución en la longitud de las raíces, lo que coincide con lo que se ha descrito en los resultados obtenidos por medio de los bioensayos. Por otro lado, en el tratamiento con el extracto etanólico de *S. subumbellatus* obtuvo que al 20% hubo una disminución en la longitud radicular respecto del control, mientras que, en este trabajo, en todas las concentraciones del extracto etanólico ensayadas se evidenció una interferencia sobre la elongación radicular a medida que aumentaba la concentración.

En cambio, en el estudio de la elongación radicular con extractos etanólicos de *S. filaginoides*, Marchiaro *et al.* (2017) observaron que el extracto al 2% causaba un estímulo en la elongación radicular, mientras que al 5 y 10% el promedio obtenido disminuyó con respecto al valor obtenido en el control, esto último coincidente con lo obtenido en este trabajo.

Henriquez (2019) obtuvo que, al igual que en este trabajo, con el extracto acuoso de *S. filaginoides* al 10 y 20% se observaron diferencias significativas respecto del control en las raíces de césped. Además, también hubo concordancia con el extracto etanólico de *S. filaginoides* y *S. subpanduratus*, donde la disminución de la elongación radicular se acentuó conforme aumentaba la concentración de los extractos.



En concordancia con lo obtenido en este trabajo, da Cruz-Silva *et al.* (2009) pudieron observar una disminución en la elongación radicular de plántulas de una especie monocotiledónea (*Zea mays* L. - maíz) conforme se aumentaba la concentración del extracto acuoso de las inflorescencias de *S. brasiliensis*.

Por otro lado, y de manera similar a lo obtenido en el presente trabajo a partir del extracto acuoso al 4%, Ahmed & Wardle (1994) obtuvieron que los extractos acuosos de hojas de *S. jacobaea* al 5% inhibieron el crecimiento radicular.

Merino *et al.* (2018) evaluaron los efectos alelopáticos de las partes aéreas de *Senecio westermanii* Dusén sobre una monocotiledónea (*Allium cepa* L. – cebolla). Aplicando distintas concentraciones del extracto etanólico de *S. westermanii* (250, 500 y 1000µg/mL) observaron que hubo una inhibición en la elongación radicular, al igual que lo obtenido con las distintas concentraciones del extracto etanólico de *S. subpanduratus* sobre otra monocotiledónea (*L. multiflorum*).

2.2. *Solanum lycopersicum*

Con respecto a la elongación radicular en las plántulas de *S. lycopersicum* (Figura 17), se observan diferencias significativas respecto del control en el tratamiento con el extracto acuoso ($p < 0,05$) para las concentraciones al 2, 4 y 20%. Si bien los tratamientos al 2 y 4% no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0,05$), en ambos casos hubo una estimulación en la longitud de las radículas, superando con el tratamiento al 2%, más de un 33% de la longitud promedio obtenida con el control. Por el contrario, el extracto acuoso al 20% tuvo un efecto inhibitorio, con lo cual se podría considerar que a dicha concentración el extracto presentó interacciones alelopáticas de interés sobre la elongación de las radículas de tomate, donde la longitud promedio fue casi la mitad en contraste con el control.

Con el extracto etanólico, la longitud de las raíces de tomate difiere significativamente respecto del control para todas las concentraciones utilizadas ($p < 0,05$), excepto en el extracto al 4%. A la concentración del 2% se observa una estimulación de la longitud radicular respecto del control, mientras que al 10% se observa una inhibición del crecimiento tal que la longitud promedio fue casi 6 veces menor que la obtenida en el control. La concentración del 20% no se consideró en el análisis, ya que no presentó germinación. En comparación, el extracto etanólico fue más efectivo que el extracto acuoso, ya que permitió una inhibición estadísticamente significativa en la elongación radicular de *S. lycopersicum* al 10% ($p < 0,05$), cuando con el extracto acuoso se empiezan a lograr los efectos buscados a partir del 20%.

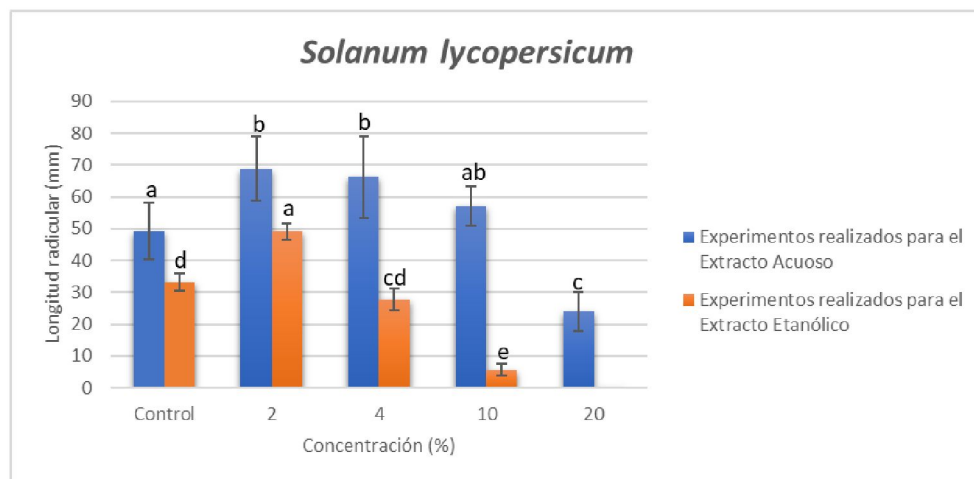


Figura 17. Promedio \pm Desviación estándar de la longitud de raíz de *S. lycopersicum* para extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus*. Letras iguales no difieren en la prueba de Tukey ($p > 0,05$).



En contraste con los resultados obtenidos en este trabajo, Pailacura (2022), pudo advertir que al tratar semillas de *S. lycopersicum* con extractos acuosos de *S. subumbellatus* a partir del 4%, la longitud radicular disminuyó conforme aumentaba la concentración, mientras que con los extractos acuosos de *S. subpanduratus* sólo se observó una disminución al 20%. Con los extractos etanólicos observó que en todas las concentraciones ensayadas disminuía la elongación radicular de la especie dicotiledónea conforme se aumentaba la concentración, mientras que en el experimento aquí presentado eso sólo pudo observarse significativamente con el extracto etanólico al 10%.

Por otro lado, Marchiaro *et al.* (2017) exponen que los extractos etanólicos de *S. filaginoides* suelen inhibir la elongación radicular de manera proporcional a la concentración, salvo al 2%, donde se observa una estimulación del crecimiento radicular en semillas de tomate, al igual que lo observado en el presente trabajo.

Henriquez (2019) pudo observar que al aplicar extractos acuosos de *S. filaginoides* sobre *S. lycopersicum* no hubo variaciones significativas respecto del control aplicando la solución al 2 y 4%, al igual que lo obtenido con los extractos acuosos de *S. subpanduratus* a las mismas concentraciones, mientras que al 10% observó una reducción en la elongación radicular y al 20% no tuvo datos. Además, al realizar los tratamientos sobre *S. lycopersicum* con extractos etanólicos, obtuvo una disminución significativa en la longitud de raíces al 4 y 10%, mientras que en el presente trabajo eso ocurrió sólo al 10%.

De manera similar a lo obtenido en este trabajo, da Cruz-Silva *et al.* (2009) pudieron observar que, en el tratamiento con el extracto acuoso de hojas de *S. brasiliensis* frente a plántulas de una dicotiledónea, la elongación radicular disminuye a la máxima concentración utilizada.

Ahmed & Wardle (1994), observaron que el crecimiento radicular en las dicotiledóneas testeadas se veía fuertemente inhibido por los lixiviados acuosos de *S. jacobaea*. Esto es comparable a lo ocurrido sobre la dicotiledónea testeada en el presente trabajo con extractos acuosos de *S. subpanduratus*, donde sólo a la mayor concentración utilizada del extracto acuoso (20%) se observó una diferencia significativa de interés respecto del control.

Merino *et al.* (2018) observaron que hubo una inhibición en la elongación radicular de la dicotiledónea tratada (*L. sativa* – lechuga) aplicando extractos etanólicos de *S. westermanii* en todas las concentraciones utilizadas; mientras que sobre *S. lycopersicum* con los extractos etanólicos de *S. subpanduratus*, esto sólo sucede al 10%.

Si se hace una comparación entre la elongación radicular de ambas especies testeadas luego de los tratamientos con el extracto acuoso, podría decirse que los extractos acuosos actuaron con mayor eficacia inhibiendo las raíces de *L. multiflorum*, en comparación con lo observado en *S. lycopersicum*, donde en general hubo estimulación.

Asimismo, con los tratamientos de las distintas concentraciones del extracto etanólico, podría señalarse que el extracto etanólico presentó mayores interacciones alelopáticas sobre las raíces de *L. multiflorum*, al igual que sucedió con el extracto acuoso.

3. Crecimiento caulinar

3.1. *Lolium multiflorum*

En el estudio de la parte aérea de las plántulas de *L. multiflorum* (Figura 18), las variaciones en los resultados obtenidos por medio de los bioensayos con el extracto acuoso no fueron significativas según el test de Tukey ($p > 0,05$).

En lo referente a las plántulas de césped tratadas con el extracto etanólico, se puede distinguir que las longitudes promedio obtenidas presentan una inhibición de la elongación caulinar, conforme se aumenta la concentración. Las diferencias en los resultados obtenidos, si bien al 2 y al 4% no son significativas entre sí, difieren significativamente respecto del control ($p < 0,05$). Además, los tratamientos al 10 y 20% también presentan diferencias significativas respecto de las demás concentraciones y del control.

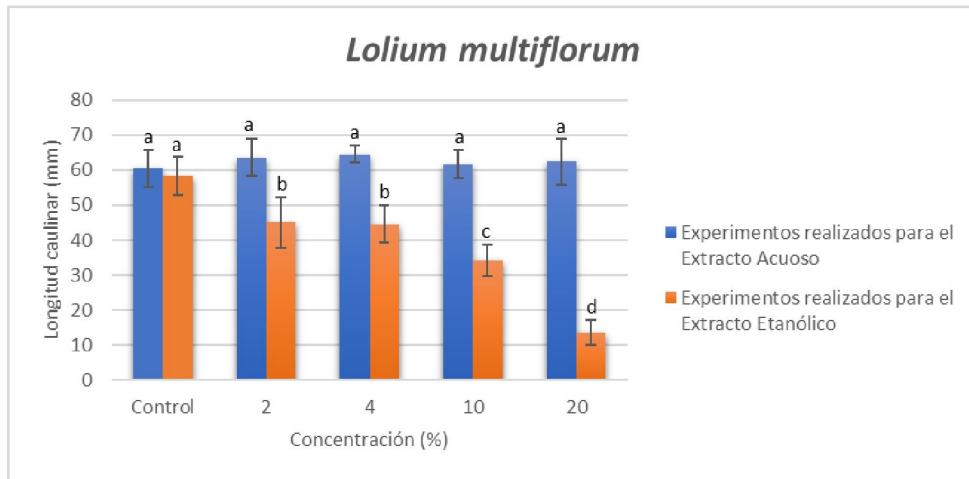


Figura 18. Promedio \pm Desviación estándar de la longitud de tallo de *L. multiflorum* para extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus*. Letras iguales no difieren en la prueba de Tukey ($p > 0,05$).

Según Pailacura (2022), al tratar a la especie *L. multiflorum* con extractos acuosos de *S. subumbellatus*, la longitud de tallos sólo presentó diferencias significativas respecto del control al 20%, en tanto que lo observado en este trabajo evidencia que el extracto acuoso no genera efectos significativos sobre césped. Asimismo, utilizando extractos etanólicos Pailacura (2022) notó una inhibición significativa en la elongación de los tallos a partir de la concentración al 10%, lo que se diferencia de lo obtenido con *S. subpanduratus*, ya que con el extracto etanólico los efectos sobre los tallos de césped fueron significativos en todas las concentraciones ensayadas.

Arancibia *et al.* (2020) publicaron que, luego del tratamiento con extracto acuoso de *S. filaginoides*, no hubo variaciones significativas en la longitud caulinar de *L. multiflorum* entre distintas concentraciones y respecto al control, al igual que lo observado en este trabajo. También hay coincidencias con respecto a los resultados informados por Arancibia *et al.* (2020) en lo relativo al tratamiento realizado con el extracto etanólico de *S. filaginoides*, ya que el desarrollo del tallo de las plantas de césped exhibe una disminución significativa de manera proporcional al aumento de la concentración.

A diferencia de los resultados obtenidos con los extractos acuosos, da Cruz-Silva *et al.* (2009), obtuvieron que el crecimiento de la parte aérea disminuyó conforme aumentaba la concentración de los extractos de *S. brasiliensis* sobre la monocotiledónea ensayada. Por otro lado, con extractos acuosos de las inflorescencias de *S. brasiliensis* no observaron efectos alelopáticos significativos en la elongación de la parte aérea de las plántulas de maíz, con respecto a los datos obtenidos en el control, al igual que lo sucedido con los extractos acuosos de *S. subpanduratus* sobre césped.

Resultados similares, pero frente al extracto acuoso de *S. filaginoides* fueron obtenidos por Henriquez (2019), donde *L. multiflorum* no presentó variaciones significativas en la elongación caulinar en ninguna de las concentraciones aplicadas. En cambio, y también conforme a lo obtenido en plántulas de césped frente al extracto etanólico de *S. subpanduratus*, las plántulas tratadas con el extracto etanólico de *S. filaginoides* presentaron una disminución gradual en la longitud de tallos a medida que aumentaba la concentración aplicada.

Merino *et al.* (2018) obtuvieron que con todos los tratamientos del extracto etanólico de *S. westermanii* sobre *A. cepa*, hubo una estimulación en el crecimiento respecto del tratamiento control, a diferencia de lo observado en el tallo de césped frente a los extractos etanólicos de *S. subpanduratus*, donde la disminución en la elongación caulinar presentó diferencias significativas respecto del control en todas las concentraciones ensayadas.



Si se hace una comparación entre los parámetros elongación radicular y elongación caulinar de *L. multiflorum*, con los tratamientos acuosos la longitud de raíces difiere del control en todas las concentraciones testeadas a partir del 4%, mientras que la parte aérea de las plántulas no presentó variaciones significativas. Esta diferencia del efecto alelopático observada sobre las partes aéreas y raíces de la monocotiledónea denota que probablemente los efectos son más pronunciados en la región de las raíces debido al contacto directo de las mismas con los extractos, aumentando la probabilidad de influencia de toxinas en esta región (Cândido *et al.*, 2010).

Además, al aplicar los tratamientos etanólicos sobre las plántulas de *L. multiflorum*, tanto las longitudes promedio de raíces como las de los tallos evidencian una inhibición significativa conforme se aumenta la concentración.

3.2. *Solanum lycopersicum*

En los bioensayos realizados utilizando el extracto acuoso de *S. subpanduratus* sobre la especie *S. lycopersicum* al 2 y 4%, no se observaron diferencias significativas en la elongación caulinar respecto del control ($p > 0,05$). El tratamiento con el extracto acuoso al 10% presenta una estimulación significativa de la longitud caulinar respecto del control ($p < 0,05$), mientras que, aplicando el extracto al 20%, hubo una disminución significativa de la elongación de los tallos respecto del control.

Con el extracto etanólico de *S. subpanduratus* sobre plántulas de tomate, hubo una disminución en la elongación caulinar al 4% ($p < 0,05$), donde la longitud de los tallos se redujo a la mitad respecto del valor obtenido con el control. Por otro lado, con el extracto etanólico al 10% hubo inhibición total del crecimiento caulinar.

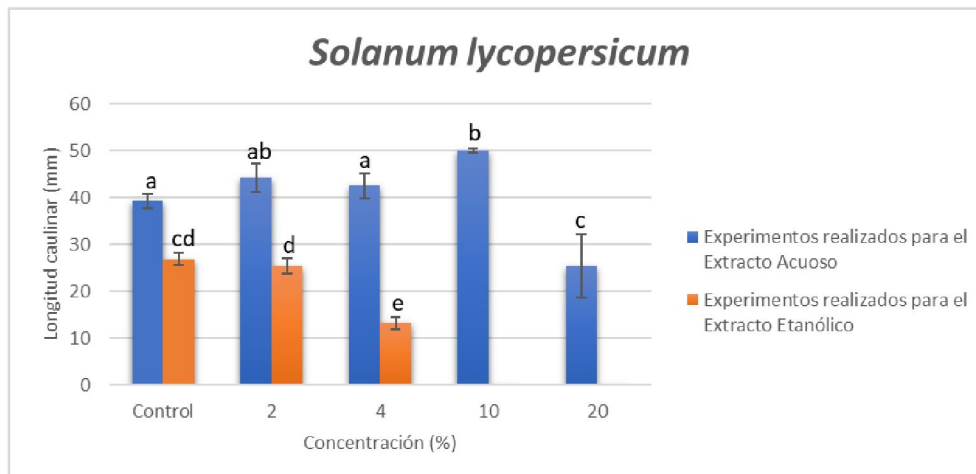


Figura 19. Promedio \pm Desviación estándar de la longitud del tallo de *S. lycopersicum* para extractos acuoso y etanólico de *S. subpanduratus*. Letras iguales no difieren en la prueba de Tukey (con una $p > 0,05$).

Si se hace un contraste en cuanto al parámetro elongación caulinar frente a los extractos acuosos, se puede observar que el extracto acuoso de *S. subpanduratus* sólo sería capaz de inhibir el desarrollo caulinar de la especie dicotiledónea a partir de la concentración al 20%, ya que la monocotiledónea no presentó efectos observables.

Con respecto a la aplicación del extracto etanólico, la especie dicotiledónea presentó mayor sensibilidad en su desarrollo aéreo en comparación con la monocotiledónea, siendo que al 10% de tomate no se desarrollaron tallos en ninguna de las plántulas germinadas, y al 20% no hubo germinación.



Los resultados obtenidos por Pailacura (2022) en los bioensayos con extractos acuosos de *S. subumbellatus* sobre tomate, muestran que se produjo una estimulación del crecimiento de las plántulas en todas las concentraciones a partir de la concentración al 4%, a diferencia de lo obtenido en el presente trabajo, donde sólo se observó una estimulación en la elongación de tallos de tomate al 10%. Asimismo, Pailacura (2022) comprueba que la exposición de las plántulas de tomate al extracto etanólico causó una disminución en la longitud del tallo proporcional a la concentración del extracto, de manera similar a lo observado al aplicar los extractos etanólicos de *S. subpanduratus* al 4 y 10% sobre tomate.

Arancibia *et al.* (2020) y Henriquez (2019) observaron que luego del tratamiento con el extracto acuoso de *S. filaginoides* al 2 y 4%, la longitud media de los tallos no presenta diferencias significativas respecto del control, al igual que lo obtenido en este trabajo. Por otro lado, vuelve a haber una coincidencia entre lo observado en los presentes bioensayos en relación a lo obtenido por Arancibia *et al.* (2020) y Henriquez (2019), ya que ambos autores plantean que las interacciones alelopáticas a partir de la concentración al 4% del extracto etanólico generarían una disminución de la longitud del tallo de *S. filaginoides*.

da Cruz-Silva *et al.* (2009) obtuvieron que luego del tratamiento con el extracto acuoso de hojas de *S. brasiliensis* sobre una dicotiledónea, los efectos alelopáticos sobre la elongación del tallo fueron significativos respecto del control en las mayores concentraciones utilizadas, al igual que en las plántulas de tomate aquí ensayadas. En cuanto a los experimentos con extractos acuosos de inflorescencias de *S. brasiliensis*, la disminución de la parte aérea ocurrió de manera significativa en todas las concentraciones utilizadas, alcanzando una reducción de casi 4 veces el valor obtenido en el control en la mayor concentración aplicada. A diferencia de esto, la reducción observada en los tallos de tomate con el extracto acuoso al 20% fue de 1,5 veces menos en relación al valor medio obtenido con el control.

Merino *et al.* (2018) observaron que a todas las concentraciones del extracto etanólico de *S. westermanii* aplicadas sobre la dicotiledónea utilizada en los bioensayos, hubo una disminución significativa en la elongación media de los tallos, en tanto que en los experimentos realizados con el extracto etanólico de *S. subpanduratus* este efecto alelopático se observó al 4%, y al 10% hubo una inhibición total de los tallos en las plántulas de tomate.

Si bien en este estudio se incluyó la elongación de tallo como un parámetro para evaluar el efecto de los extractos de *S. subpanduratus*, no es posible asegurar que la reducción en el crecimiento de los tallos con el extracto etanólico sea el resultado de la acción directa de los aleloquímicos, o bien sea una consecuencia de la disminución en el crecimiento de la raíz (Oliveira *et al.*, 2004), como se observa en este trabajo para la especie dicotiledónea.

Teniendo en cuenta la aplicación del extracto acuoso, si se comparan los parámetros elongación radicular y caulinar sobre *S. lycopersicum*, la longitud radicular se vio estimulada al 2 y 4%, presentando inhibición sólo con el extracto al 20%, mientras que la longitud de los tallos al 2 y 4% no evidenció efectos significativos, y presentó estimulación al 10% e inhibición al 20%.

Por otro lado, considerando la aplicación del extracto etanólico, la elongación radicular fue significativa sólo con el extracto al 10%, mientras que en lo relativo a los tallos hubo una disminución significativa al 4%, y con el extracto al 10%, hubo una inhibición total del crecimiento del tallo en todos los individuos ensayados.



4. Interacciones alelopáticas

Belinelo *et al.* (2008) comentaron que el mecanismo por el cual actúan los aleloquímicos está relacionado con la modificación de procesos fisiológicos y bioquímicos. Souza *et al.* (2003) señalaron que una serie de compuestos tales como aromáticos, aldehídos, fenoles, flavonoides y cumarinas pueden afectar la actividad fisiológica y la respiración de las plantas objetivo.

Específicamente, en los estudios llevados a cabo con especies del género *Senecio* se observó que los metabolitos secundarios fueron los responsables del cambio en el patrón de germinación y crecimiento de las especies objetivo. En la bibliografía existente se observa que el quimiomarcador preponderante para las especies de *Senecio* son los eremofilanos (Reina *et al.*, 2012; Arancibia *et al.*, 2013; Marchiaro *et al.*, 2017; Merino *et al.*, 2018).

Particularmente, en lo que respecta a especies patagónicas de *Senecio*, la estructura de un furanoeremofilano aislado del *Senecio filaginoides* var. *filaginoides*, fue publicada por primera vez por Arancibia *et al.* (2018), mientras que otros eremofilanos fueron publicados por Reina *et al.* (2012), quien trabajó con especies del género *Senecio* del sur de Chile (*Senecio candidans* y *Senecio magellanicus*).

Finalmente, en lo relativo a la especie de *Senecio* objeto del presente estudio, se presenta el trabajo realizado por Gratti *et al.* (2014), donde se pudo evidenciar la presencia de polifenoles, taninos, flavonoides, cumarinas, antraquinonas, terpenoides y esteroides en metabolitos secundarios de *S. subpanduratus*.

Aunque la mayoría de los compuestos detallados anteriormente retrasan el crecimiento de las raíces de las especies objetivo, los compuestos 6 β -hidroxi-8 α -metoxieremophila-1(10),7(11)-dien-12,8 β -olida; Tolucanolida A y Tolucanolida C de *S. candidans* y *S. magellanicus* pudieron estimular el desarrollo de las raíces de *L. sativa* (Reina *et al.*, 2012), como se observa en la especie dicotiledónea objetivo en el presente trabajo.

Los efectos fitotóxicos suelen ser más pronunciados en la región de las raíces debido al contacto directo de las mismas con los extractos, aumentando la probabilidad de influencia de toxinas en esta región (Cândido *et al.*, 2010). A su vez, los bioensayos de elongación de la radícula han demostrado ser más sensibles a los efectos alelopáticos que la germinación de semillas (Souza Filho *et al.*, 2010), y particularmente se han reportado efectos inhibidores en la raíz primaria (Maraschin-Silva & Aqüila, 2006). Los resultados expuestos en este trabajo también demuestran que al comparar los resultados de germinación y crecimiento de raíces para *L. multiflorum* y *S. lycopersicum*, se observa que el efecto inhibitorio fue más prominente en las raíces en comparación con la germinación.

La determinación y el análisis de los compuestos presentes en los extractos acuosos y etanólicos resulta esencial al momento de identificar aquellos grupos que se presumen responsables directos de los efectos secundarios de la inhibición y la estimulación. Igual de primordial resulta la identificación de los compuestos que, sin ser responsables directos, tengan algún tipo de actividad o influencia sobre las interacciones alelopáticas. A tales efectos, Moreira *et al.* (2008) mencionan que la actividad alelopática no debe ser entendida únicamente como la acción de un determinado aleloquímico específico, sino que puede ser debido a la sinergia de varios aleloquímicos que se encuentran en la especie actuando simultáneamente.

Lo antes mencionado cobra mayor relevancia aún si se considera que los compuestos secundarios producidos por las plantas se aplican mayoritariamente en otras especies, modificando el desarrollo y efecto de los organismos afectados y reduciendo sus poblaciones (Moreira *et al.*, 2008), y como el efecto alelopático está mediado por diferentes clases de metabolitos secundarios, resulta difícil identificar de cuál de los grupos proviene el efecto observado (Merino *et al.*, 2018). Por todo lo anterior, resulta imperativo realizar estudios posteriores para el aislamiento y estudio de estos compuestos, en vistas de una mayor comprensión de la magnitud y el orden de los efectos alelopáticos de los extractos de *S. subpanduratus* sobre especies monocotiledóneas y dicotiledóneas, en vistas de su posible aplicación como bioherbicida para el control de las malezas en los cultivos.



CONCLUSIONES

La especie *S. subpanduratus* tiene actividad alelopática sobre la especie monocotiledónea *Lolium multiflorum* y la especie dicotiledónea *Solanum lycopersicum*, comprobada por los cambios provocados en la germinación, la elongación radicular y caulinar.

Según los resultados presentados con los distintos extractos *in vitro* de *S. subpanduratus*, el patrón alelopático en *L. multiflorum* y *S. lycopersicum* fue diferente, observándose una mayor sensibilidad en la especie dicotiledónea. A su vez la mayor incidencia se observa en los resultados obtenidos al utilizar el extracto etanólico frente al acuoso.

Para las plántulas de *L. multiflorum*, la mayor influencia se observó en el crecimiento longitudinal de la radícula, para ambos extractos.

Para los individuos de *S. lycopersicum*, la mayor influencia se observó en el crecimiento longitudinal del tallo, para ambos extractos.

Se observó un marcado efecto alelopático con el uso del extracto etanólico, afectando en mayor medida a la especie dicotiledónea.

Estos resultados sugieren que las propiedades biológicas observadas podrían utilizarse para producir herbicidas amigables con el ambiente. Además, son un incentivo para continuar con su estudio y de vital importancia al momento de considerar el reemplazo de los agroquímicos sintéticos, con el fin de lograr un manejo sustentable de los cultivos y disminuir de esta manera el impacto ambiental generado por las sustancias químicas de síntesis.

BIBLIOGRAFÍA

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, 61-68.

Andrade, F. H. (2020). *Los desafíos de la agricultura global*. Ediciones INTA. Recuperado el 15 de marzo de 2023 de <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/9137>

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*, 2(1), 101-107.

Arancibia, L. A., Marchiaro, A., Balzaretto, V., Feijóo, M., & Arce, M.E. (2000). Variation in the composition of the essential oil of *Senecio filaginoides* DC. *Molecules*, 5(3), 459-461.

Arancibia, L. A., Marchiaro, A., Pucci, G., & Arce, M. E. (2018). 8-hydroxy-9-keto-10 α H-eremophil-7 (11)-en-8, 12-olide isolated from the essential oil of *Senecio filaginoides* DC and its antimicrobial activity. *The Natural Products Journal*, 8(3), 207-212.

Arancibia, L. A., Naspi, C., Pucci, G., & Arce, M. (2010). Aromatic plants from Patagonia: chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Senecio mustersii* and *S. subpanduratus*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(2), 123-126.

Badii, M. H., & Landeros, J. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *Cultura Científica y Tecnológica (CULCyT)*, 4(19), 21-34. Recuperado el 12 de abril de 2023 de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7235924>

Belinelo, V. J., Czepak, M. P., Vieira Filho, S. A., de Menezes, L. F. T., & Jamal, C. M. (2008). Alelopatia de *Arctium minus* Bernh (Asteraceae) na germinação e crescimento radicular de sorgo e pepino. *Revista Caatinga*, 21(4), 12-16.



- Bellis, M. (2020). *History of the Agricultural Revolution*. ThoughtCo. Recuperado el 15 de marzo de 2023 de <https://www.thoughtco.com/agricultural-revolution-1991931>
- Bewley, D. & Black, M. (1985) *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York.
- Borlaug, N. E. (2007). Sixty-two years of fighting hunger: personal recollections. *Euphytica*, 157, 287-297.
- Butinof, M., Fernández, R., Muñoz, S., Lerda, D., Blanco, M., Lantieri, M. J., Antolini, L., Gioco, M., Ortiz, P., Filippi, I., Franchini, G., Eandi, M., Montedoro, F., & del Pilar Díaz, M. (2017). Valoración de la exposición a plaguicidas en cultivos extensivos de Argentina y su potencial impacto sobre la salud. *Revista Argentina de Salud Pública*, 8(33), 8-15.
- Cabrera, A. (1971). Compositae. En Correa, M. *Flora Patagónica (VII)*. Colección Científica del INTA. Buenos Aires.
- Caldwell, J. C., & Schindlmayr, T. (2002). Historical population estimates: Unraveling the consensus. *Population and development review*, 28(2), 183-204.
- Cândido, A. C. D. S., Schmidt, V., Laura, V. A., Faccenda, O., Hess, S. C., Simionatto, E., & Peres, M. T. L. P. (2010). Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. *Acta botânica brasileira*, 24(1), 235-242.
- Canihuante Suarez, L. A. (2012). *La alelopatía y la agricultura*. Tesis de grado. Universidad de la Frontera. Recuperado el 28 de octubre de 2022 de <https://bibliotecadigital.ufro.cl/?a=view&item=13>
- Chou, C. H. (1989). The role of allelopathy in phytochemical ecology. En Chou, C. H., Waller, G. R. (ed.) *Phytochemical ecology: Allelochemicals, mycotoxins and insect pheromones and allomones*. Taipei: Institute of Botany, Academia Sinica, 19-38.
- 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.
- De Feo, V., De Simone, F., & Senatore, F. (2002). Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, 61(5), 573-578.
- De Oliveira, A. K. M., Matias, R., Pina, J. C., & da Silva, L.T. (2017). Alelopatia e seu potencial na formulação de bioherbicidas. En Londrina Editora Científica, *Produção e Gestão Agroindustrial - 4*, 89-104. Recuperado el 2 de noviembre de 2022 de https://www.researchgate.net/profile/Jose-Reis-Neto/publication/346678491_Cap_1_Escalas_Questionario_e_Tecnicas_Estatisticas_Recomendaveis/links/5fce359945851568d146dd58/Cap-1-Escalas-Questionario-e-Tecnicas-Estatisticas-Recomendaveis.pdf#page=95
- 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. Recuperado el 10 de marzo de 2023 de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010&lng=es&tlng=es
- Díaz, A. (2008). Buenas prácticas agrícolas, guía para pequeños y medianos agroempresarios. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)*. Tegucigalpa, Honduras. 28 p. Recuperado el 24 de abril de 2023 de <http://52.165.25.198/bitstream/handle/11324/18970/CDHN21108080e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Duke, S. O., Dayan, F. E., Romagni, J. G., & Rimando, A. M. (2000). Natural Products as Sources of Herbicides: Current Status and Future Trends. *Weed Research (Oxford)*, 40(1), 99-111.



- Evans, L. T. (1997). Adapting and improving crops: the endless task. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 352(1356), 901-906.
- FAO. Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación. (1997). Comisión del Códex Alimentarius. Roma, Italia.
- Ferreira, A. G., & Aquila, M. E. A. (2000). Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Revista brasileira de fisiologia vegetal*, 12(1), 175-204.
- Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. & Scheffer, J.J.C. (2008), Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(4), 213-226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>
- Gordon, L. J., Bignet, V., Crona, B., Henriksson, P. J., Van Holt, T., Jonell, M., Lindahl, T., Troell, M., Barthel, S., Deutsch, L., Folke, C., Haider, L., Rockstrom, J., & Queiroz, C. (2017). Rewiring food systems to enhance human health and biosphere stewardship. *Environmental Research Letters*, 12(10), 100-201.
- Gratti, A., Feijóo, M. S., Barrientos, E. A., Peneff, R. B., & Laztra, E. (2014). Caracteres anatómicos, morfofuncionales y químicos foliares de *Senecio subpanduratus* (Asteraceae). *Dominguezia* 30(1), 41-46.
- Henriquez, A. M. (2019). El *Senecio filaginoides* como fuente de agentes alelopáticos y su posible uso como bioherbicida. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. 36 p.
- Hoagland, R. E., & Williams, R. D. (2004). Bioassays: Useful tools for the study of allelopathy. *Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals*, 315-341.
- Inderjit, D. K., & Dakshini, K. M. M. (1995). On Laboratory Bioassays in Allelopathy. *Botanical Review*, 61(1), 28-44.
- Inderjit, D. K. & Weston, L. A. (2000). Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2111-2118.
- Instituto de Botánica Darwinion. (s.f). *Senecio subpanduratus*. Recuperado el 8 de marzo de 2023 de <http://www.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=&subespecie=&especie=subpanduratus&genero=Senecio&espcod=17693>
- Jarvis, P. (2001). Biopesticides: trends and opportunities. *Agrow Reports*, PJB Publications, 45-50.
- Leicach, S. R. (2006). *Alelopatía. Interacciones químicas en la comunicación y defensa de las plantas*. Eudeba (Editorial Universitaria de Buenos Aires).
- Liebig, J., & Gerhardt, C. F. (1841). *Chimie organique appliquée a la physiologie végétale et a l'agriculture suivie d'un essai de toxicologie*. Fortin, Masson et Cie.
- Macedo, F. M. (2007). Triagem fitoquímica do barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville). *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2), 1166-1168.
- Macías, F.A. (1995). En *Allelopathy: organisms, processes and applications*. Inderjit, Darkshini y Einhellig Eds., *American Chemical Society*, 582, 310-329.
- Malthus, T. R. (1798). *An Essay on the Principle of Population*. 1st edition. Johnson, Londres.
- Mann, C. C., & Mann, C. M. (2013). *1493: Una nueva historia del mundo después de Colón*. Katz editores. Madrid. 631 p.
- Maraschin-Silva, F., & Aquila, M. E. A. (2006). Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Botanica Brasílica*, 20, 61-69.



- Marchiaro, A., Martínez, A., & Arancibia, L. (2017). Biopesticidas: estudios preliminares para la evaluación de extractos y compuestos puros extraídos de *Senecio filaginoides* DC (Asteraceae) con potenciales aplicaciones en agroquímica. *Desarrollo e Innovación En Ingeniería*, 456-466.
- Mazzafera, P. (2003). Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Brazilian Journal of Botany*, 26, 231-238.
- Merino, F. J. Z., Ribas, D. F., da Silva, C. B., Duarte, A. F. S., da Silva, P., de Oliveira, M., Dias, J. F., Miguel, 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(3).
- Molisch, H. (1937). The influence of one plant on another: allelopathy. *Scientific Publishers*, India.
- Moreira, P. F. S. D., de Souza, D. R., & Terrones, M. G. H. (2008). Avaliação do potencial alelopático do extrato metanólico obtido das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi) na inibição do desenvolvimento da raiz em sementes de *Panicum maximum*. *Bioscience Journal*, (24)3, 74-79.
- 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 Brasílica*, 18, 401-406.
- Organización Mundial de la Salud. (2019). Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación. Vol. 1, 104 p. Recuperado el de: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1319595/retrieve>
- Pailacura, M. (2022). Una alternativa amigable con el ambiente: Evaluación del *Senecio subumbellatus* Phill como potencial bioherbicida. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. 22 p.
- Pentreath, V., González, E., Barquín, M., Ríos, S. M., & Perales, S. (2015). Bioensayo de toxicidad aguda con plantas nativas para evaluar un derrame de petróleo. *Revista de salud ambiental*, 15(1), 13-20.
- Peterson, D. E., Thompson, C. R., Shoup, D., & Olson, B. (2010). *Herbicide mode of action*. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. 24 p.
- Pórfido, O. D., Butler, E., de Titto, E., Issaly, P., & Benítez, R. (2014). Los plaguicidas en la República Argentina. *Departamento de Salud Ambiental. Dirección Nacional de Determinantes de la Salud e Investigación. Ministerio de Salud de la Nación*, Argentina. Recuperado el 25 de febrero del 2023 de https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/0000000341cnt-14-plaguicidas_argentina_0.pdf
- Quargnolo, E. A., Andrade, F., Bedmar, F., Borracci, S., Jaime, S., Leonardi, C., Martens, F., Szczesny, A., Tito, G. & Vigna, M. (2013). Criterios para la gestión de uso de plaguicidas con un marco de ordenamiento territorial. *Ediciones INTA*. Recuperado el 26 de febrero del 2023 de <https://inta.gob.ar/documentos/criterios-para-la-gestion-de-uso-de-plaguicidas-con-un-marco-de-ordenamiento-territorial>
- Ramírez, J. A., & Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales*, 4(2), 67-75. Recuperado el 11 de marzo de 2023 de https://archivosdeprevencion.eu/view_document.php?tpd=2&i=1270
- Rasmuson, M., & Zetterström, R. (1992). World population, environment and energy demands. *Ambio (Sweden)* 21, 70-74.
- Reina, M., Santana, O., Domínguez, D. M., Villarroel, L., Fajardo, V., Rodríguez, M. L., & González-Coloma, A. (2012). Defensive Sesquiterpenes from *Senecio candidans* and *S. magellanicus*, and Their Structure-Activity Relationships. *Chemistry & biodiversity*, 9(3), 625-643.



Repetto, M., Sanz, P., Jurado, C., López-Artíguez, M., Menéndez, M., & de la Peña, E. (1995). Glosario de términos toxicológicos. *Asociación Española de Toxicología. Madrid, España.*

Robles, R. E., & Esquivel, E. V. (2006). Clasificación y uso de los herbicidas por su modo de acción. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F. S., Lambin, E. F., Lenton, T., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H., Nykvist, B., De Wit, C., Hughes, T., Van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R., Fabry, V., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P., & Foley, J. (2009). A safe operating space for humanity. *Nature*, 461, 472-475.

Roncal, T., Cadierno, U., Torrecilla, J., Jaca, J. G., Garmendia, I., Azpeitia, M., & Gómez, J. R. O. (2010). La biotecnología en el sector químico: Posibilidades de aplicación en la producción de pesticidas y otros productos agroquímicos. *Ingeniería química*, (479), 86-91.

Sampietro, D. A. (2001). Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. *Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes*. 26p.

Sánchez Martín, M. J., & Sánchez Camazano, M. (1985). *Los plaguicidas. Adsorción y evolución en el suelo*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (España).

Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2001). Allelopathy in agroecosystems: an overview. *Journal of Crop production*, 4(2), 1-41.

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.

Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., & Gniazdowska, A. (2013). Allelochemicals as bioherbicides: Present and perspectives. En *Herbicides-Current research and case studies in use*, IntechOpen. Recuperado el 31 de marzo de 2023 de <https://www.intechopen.com/chapters/44466>

Souza Filho, A. D. S., Guilhon, G. M. S. P., & Santos, L. D. S. (2010). Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório: revisão crítica. *Planta daninha*, 28, 689-697.

Souza, L. S., Velini, E. D., & Maiomoni-Rodella, R. C. S. (2003). Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). *Planta daninha*, 21, 343-354.

StatSoft. (2002). STATISTICA 7.0. Windows. Hamburg, Germany.

Vokou, D. (2005). *Essential oils as allelochemicals*. Fourth World Congress on Allelopathy, Charles Sturt University in Wagga Wagga, NSW, Australia.

Vyvyan, J. R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, 58(9), 1631-1646. Recuperado el 15 de abril de 2023 de <https://pharmacy.hebmu.edu.cn/trywhx/resources/43/2019623175345.pdf>

Waller, G. R. (2004). Reality and Future of Allelopathy. En F. A. Macias, J. C. G. Galindo, J. M. G. Molinillo (Eds.). *Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals*. CRC Press LLC. 1-12.

Wandscheer, A. C. D. & Pastorini, L. H. (2008). Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. *Ciência Rural*, 38(4), 949-953.

Young, B. J., Riera, N. I., Beily, M. E., Bres, P. A., Crespo, D. C., & Ronco, A. E. (2012). Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, 182-186.