

Efecto alelopático de la esparceta (*Onobrychis viciifolia* scop.) sobre diferentes especies forrajeras

Allelopathic effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.) on different forage species

C. CHOCARRO / J. LLOVERAS

Centre UdL-IRTA. Rovira Roure 191. 25198. Lleida (España). Chocarro@pvcf.udl.es

Resumen: En este trabajo se analiza el efecto alelopático del extracto acuoso de esparceta (*Onobrychis viciifolia* Scop) sobre otras especies forrajeras. Para el estudio se han utilizado 4 concentraciones diferentes (0-10-20-40 g/l) de extracto acuoso de planta entera de esparceta cuyos efectos se han cuantificando en la germinación y en la longitud radicular de Alfalfa (var. Aragón), de 2 procedencias de esparceta (Jarque y Montañana) y en variedades comerciales de *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum*, *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens* y *Trifolium pratense*. Los efectos alelopáticos provocados por el extracto acuoso de esparceta se han manifestado de forma más importante en la longitud radicular que en la germinación de las especies. Con concentraciones elevadas se produce una disminución del 30% en la germinación y en un 50% la longitud radicular respecto a la solución control. Además de la autotoxicidad de la esparceta en la germinación y longitud radicular de sus propias semillas, se pone en evidencia la drástica reducción del sistema radicular de los dos tréboles (*T.pratense* y *T. repens*) y en los raigrás (*L. multiflorum* y *L. perenne*). La fitotoxicidad detectada se tendrá que verificar en condiciones de campo para poder determinar su importancia sobre la instalación del cultivo siguiente.

Palabras clave: fitotoxicidad, germinación, longitud radicular.

Abstract: In this paper we analyze the allelopathic effects of aqueous extract of *Onobrychis viciifolia* Scop. in several forage species. We used 4 different concentrations (0-10-20-40 g/l) of aqueous extract of sainfoin and we quantified the percentage of germination and root length of alfalfa (var. Aragón) of sainfoin (Jarque and Montañana) and commercial varieties of *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum*, *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens* and *Trifolium pratense*. The allelopathic effects caused by the aqueous extract of sainfoin were more evident on the root length than on the germination of the species analyzed. High concentrations of aqueous extract of sainfoin reduced a 30% the germination and a 50% the root length compared to the control solution. We observed autotoxicity effects on the germination and root length of sainfoin seeds and also a drastic reduction of the root system on both clover (*T. pratense* and *T. repens*) and raygrass (*L. multiflorum* and *L. perenne*).

Key words: phytotoxicity, germination, root length.

INTRODUCCIÓN

La alelopatía es un mecanismo de interferencia vegetal, ocasionado por la adición de fitotoxinas al ambiente que se encuentran presentes en numerosas plantas y distribuidos en diferentes tejidos. En condiciones adecuadas pueden ser liberados al medio en cantidades suficientes como para afectar al crecimiento de las plantas vecinas. El uso de la alelopatía es una interesante alternativa para el desarrollo de un manejo integrado de malas hierbas gracias a los cultivos de cobertura con potencial alelopático, minimizando así la aplicación de herbicidas en los cultivos siguientes (Putnam y Duke, 1978).

El potencial alelopático de distintas especies forrajeras o arvenses ha sido ampliamente estudiado por diversos autores (Chon, 2002; Koloren, 2007; Smith y Martin,

1994; Seguin, 2002; Xuan, 2002; San Emeterio *et al.*, 2004; Canals *et al.*, 2005, etc.). Algunos de ellos, se centran especialmente en el efecto autotóxico de la alfalfa por su relevancia dentro de la producción de forrajes, sin embargo, existe muy poca información sobre la fitotoxicidad de otra forrajera importante dentro del secano del noroeste peninsular como es la esparceta (*Onobrychis viciifolia* Scop.)

La esparceta se instala adecuadamente sobre sustratos calizos de secano en altitudes superiores a los 600 m (Delgado *et al.*, 2002) y como cultivo forrajero alcanzó su máxima superficie hacia los años 70 gracias a la promoción del Ministerio de Agricultura. Posteriormente la superficie de esparceta ha ido sufriendo un progresivo descenso debido, entre otras causas, a su menor producción comparada con otros cultivos forrajeros. En la actualidad algunas comunidades autónomas la han incluido dentro de las ayudas agroambientales.

En este trabajo se analiza el efecto fitotóxico del extracto acuoso de *Onobrychis viciifolia* Scop. sobre la germinación y la longitud radicular de otras especies forrajeras presentes en prados y en cultivos forrajeros. Es interesante conocer dicho efecto por las posibles implicaciones agronómicas de su cultivo en campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado para la obtención del extracto acuoso fue esparceta procedente de Montañana (Hu) en inicio de floración. Se secó durante 48 h en una estufa de aire forzado y se molió con un tamiz de 1mm. La solución acuosa se obtuvo mezclando 40 g de material vegetal en 1 litro de agua destilada que fue agitado a temperatura ambiente durante 24 horas. Posteriormente, este material se centrifugó a 3000 rpm durante 3 horas y el sobrenadante se filtró hasta obtener el extracto acuoso. Las concentraciones utilizadas fueron: 40, 20, 10 y 0 g/l.

Las semillas seleccionadas para este estudio fueron: *Medicago sativa* var. Aragón, *Onobrychis viciifolia* procedencia Jarque, *O. viciifolia* procedencia Montañana, *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum*, *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*. Se sometieron a un tratamiento de desinfección en una dilución de 1:10 de hipoclorito sódico durante 15 minutos y posterior lavado con agua destilada para evitar la presencia de hongos y otros patógenos.

El ensayo consistió en 4 repeticiones por cada una de las concentraciones de extracto acuoso y para cada especie o procedencia. Se utilizaron placas de petri de 9 cm. de diámetro con papel de germinación a las que se añadió 10 ml de extracto acuoso en las distintas concentraciones y sobre las que se distribuyeron cuidadosamente 50 semillas de cada especie. Una vez preparadas las placas, se introdujeron en una cámara de germinación a 24°C en periodo diurno (16h de luz) y a 20°C durante el periodo nocturno (8h oscuridad) siguiendo el protocolo ISTA (1976).

Se evaluó el número de semillas germinadas y la longitud radicular media por placa de petri al cabo de 7 días en el caso de la alfalfa, trébol blanco y trébol violeta, raigrás

inglés y raigrás italiano así como la festuca, mientras que la esparceta se cuantificó al cabo de 9 días debido a su menor velocidad de desarrollo radicular.

El efecto de las diferentes concentraciones de extracto sobre la germinación y la elongación radicular en los 8 tipos de semillas fue analizada a través de un Análisis de Varianza para cada especie en función de la concentración y se utilizó un análisis de DMS para establecer las diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre las medias. Los datos de porcentaje de reducción de la germinación respecto a la solución control (0 g/l) fueron transformados (arcoseno de la raíz cuadrada) para el análisis estadístico. Para la realización de los análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS v.15.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto acuoso de esparceta provocó, en general, un efecto inhibitor tanto en la germinación como en la longitud radicular de las especies forrajeras utilizadas. Para poder comparar los resultados obtenidos entre las diferentes especies, se calculó el porcentaje de disminución de la germinación en función de cada germinación patrón (0 g/l) y lo mismo se efectuó con los datos de longitud radicular (fig. 1).

La concentración más baja (10 g/l) ha supuesto, en conjunto, una disminución de la germinación bastante escasa, cercana al 5%, mientras que con 40 g/l se reduce un 30% respecto a las germinaciones control. Se trata de una disminución menor que la que se origina con extractos de alfalfa (Xuan, 2002; Koloren, 2007) ya que pueden llegar a ser con 25 g/l de un 55 y un 65% según las especies.

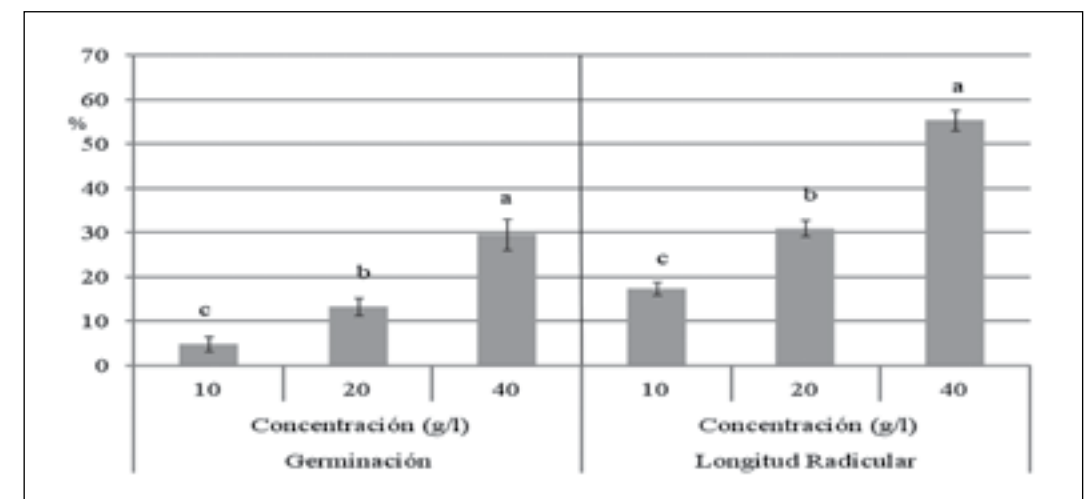


Figura 1. Porcentaje de reducción de la germinación y de la longitud radicular respecto del control (0 g/l) en las especies estudiadas en función de las concentraciones de extracto acuoso de esparceta. Media \pm error estándar. Análisis DMS. Letras diferentes para cada variable indican diferencias significativas $p \leq 0.05$.

Respecto al efecto fitotóxico del extracto acuoso de esparceta sobre el crecimiento radicular, es posible observar (fig. 1), una progresiva reducción de la longitud, llegando a superar el 50% del crecimiento control, cuando las concentraciones son elevadas (40 g/l). Nuestros resultados concuerdan con el estudio de Li (2009) que analiza el efecto alelopático de la esparceta en 7 especies de malas hierbas. Al compararlos con los efectos cuantificados de los extractos de alfalfa (Chon, 2002; Koloren, 2007) podemos apreciar un menor efecto inhibitor ya que a concentraciones altas pueden llegar a reducciones del 70-75%. En todo caso, consideramos que esta sensible reducción radicular detectada en el laboratorio hay que testarla en condiciones de campo donde intervienen un mayor número de variables tanto bióticas como abióticas.

Al desglosar los resultados en función de las especies ensayadas (fig. 2) podemos observar algunas respuestas bien diferenciadas. En primer lugar la alfalfa no ha presentado un patrón claro de inhibición de la germinación ante concentraciones crecientes de extracto de esparceta. A concentraciones bajas (10 g/l) se produce una reducción de la germinación muy pequeña o nula en algunas especies como en *Lolium perenne*, *L. multiflorum*, en los dos tréboles, *Trifolium pratense* y *T. repens* (cercasas al 1-2%) o bien en *Festuca arundinacea* que en estas condiciones no muestra una reducción en su germinación. Sí parece tener un mayor efecto autotóxico sobre la germinación de las dos esparcetas (*O. viciifolia*) ensayadas con estas concentraciones ya que se supera el 10%.

La mayor sensibilidad fitotóxica se detecta en la germinación de la propia esparceta a concentraciones de 40 g/l procedente de Jarque ya que se reduce hasta un 50% su germinación, siendo también importante la disminución que muestran especies como *Lolium perenne* (45%) y *Trifolium repens* (40%). Koloren (2007) analizó el efecto alelopático de la alfalfa sobre *Lolium perenne* y concluyó que a concentraciones de 5,25 y 50 g/l se reduce la germinación un 14, 60 y el 100% respectivamente. En nuestro caso, sobre extracto de esparceta la afección no ha sido tan importante. Las especies que menor respuesta alelopática han demostrado, incluso a concentraciones elevadas, son *Festuca arundinacea* y *Lolium multiflorum*. Si estos resultados se mantienen en condiciones de campo podrían suponer una disminución en el éxito de la siembra por lo que tendríamos que aconsejar una rotación de cultivos tras la siembra de esparceta, o bien sembrar a mayores dosis de semilla.

La respuesta alelopática sobre el crecimiento radicular es, en algunas especies, mucho más importante que sobre la germinación (fig. 3). Chung y Miller (1995) estudiaron el efecto de extractos de 9 gramíneas forrajeras sobre el crecimiento radicular de la alfalfa detectando una disminución cercana al 40%, mientras que con extractos de esparceta nosotros hemos obtenido tan sólo un 33% de reducción en las concentraciones más elevadas. Sin embargo, otras especies como *Lolium perenne* y *Lolium multiflorum* así como los dos tréboles (*Trifolium pratense* y *Trifolium repens*) si que muestran una fuerte sensibilidad, llegando a alcanzar una disminución radicular cercana al 80% respecto al crecimiento control.

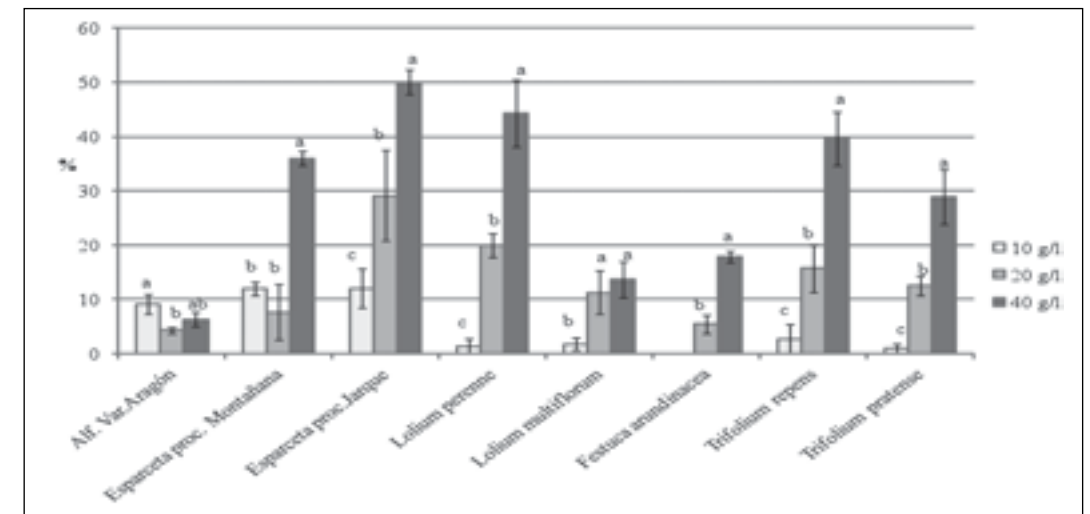


Figura 2. Porcentaje de reducción de la germinación respecto a la germinación control para cada una de las especies estudiadas. Media \pm error estándar. Análisis DMS. Letras diferentes para cada especie indican diferencias significativas $p \leq 0.05$.

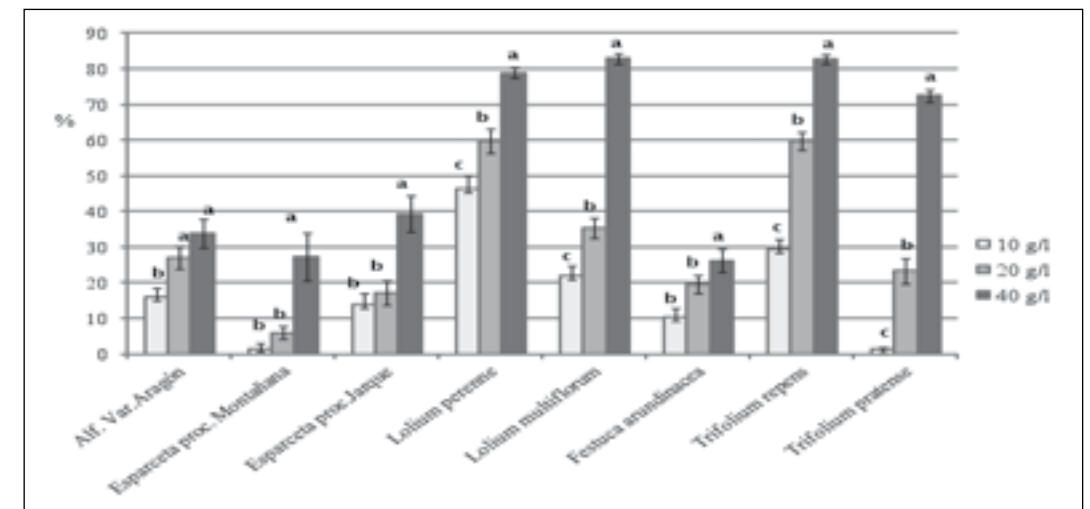


Figura 3. Porcentaje de reducción de la longitud radicular para cada una de las especies estudiadas. Media \pm error estándar. Análisis DMS. Letras diferentes para cada especie indican diferencias significativas $p \leq 0.05$.

CONCLUSIONES

Los efectos alelopáticos provocados por el extracto acuoso de esparceta se han manifestado de forma más importante en la longitud radicular que en la germinación de las especies analizadas (alfalfa, esparceta, raigrás inglés, raigrás italiano, trébol blanco, trébol violeta, *Festuca arundinacea*). La germinación se ha visto afectada un 30% al incrementar la concentración de esparceta hasta los 40 g/l, mientras que la longitud radicular media se reduce en un 50% respecto a crecimientos en solución control.

Se ha podido comprobar el efecto autotóxico que presenta la esparceta provocando una reducción de la germinación (cerca de 50% en esparcetas de procedencia Jarque) y 37% sobre la longitud radicular. El efecto sobre el crecimiento radicular de *Trifolium repens* y *T. pratense* es aun más importante ya que se reduce un 75% a concentraciones elevadas. La alelopatía que produce el extracto de esparceta sobre las tres gramíneas estudiadas se pone de manifiesto a concentraciones elevadas llegando a ser importantes en *Lolium multiflorum* y *L. perenne* con una reducción de la raíz cercanas al 80%.

Consideramos que hay que tener en cuenta esta fitotoxicidad a la hora de gestionar la rotación de cultivos o las densidades de siembra de los cultivos siguientes por las posibles implicaciones agronómicas, si bien hay que corroborar estos resultados obtenidos en el laboratorio con muestreos de campo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado dentro del proyecto INIA-RTA2009-00063-C02

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CANALS R.M., SAN EMETERIO L. Y PERALTA J. (2005) Autotoxicity in *Lolium rigidum*: analyzing the role of chemically mediated interactions in annual plant populations. *Journal of Theoretical Biology*, **235**, 402-407.
- CHON S. (2002) Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. *Crop Protection*, **21**, 1077-1082.
- CHUNG I. Y MILLER D. (1995). Natural herbicide potencial of alfalfa residue on selected weed species. *Agronomy Journal*, **87**, 920-925
- DELGADO I., ANDRES C., SIN E. Y OCHOCA M.J. (2002) Estado actual del cultivo de la esparceta (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Encuesta realizada a agricultores y productores de semilla. *Pastos*, **32** (2), 235 – 247.
- I.S.T.A. (2006) *International rules for seed testing*. Edition 2006. The International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf, CH-Switzerland.
- KOLOREN O. (2007) Allelopathic effects of *Medicago sativa* L. and *Vicia cracca* L. leaf and root extracts on weeds. *Pakistan Journal Biological Sciences*, **10**, 1639-1642.
- LI R. (2009) Allelopathy of root exudates of *Onobrychis viciaefolia* on 7 kinds of weed. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, **15**, 7059-7061.
- PUTNAM A.R. Y DUKE W. (1978) Allelopathy in agroecosystems. *Annual review of Phytopathology* **16**, 431-451.
- SAN EMETERIO L., ARROYO A. Y CANALS R.M. (2004) Allelopathic potential of *Lolium rigidum* Gaud. on the early growth of three associated pasture species. *Grass and Forage Science*, **59**, 107-112.
- SEGUIN P. (2002) Alfalfa autotoxicity: Effects of residing delay, original stand age, and cultivar. *Agronomy Journal*, **94**, 775-778.
- SMITH A. Y MARTIN L. (1994) Allelopathic characteristics of grass weeds in the forage ecosystem. *Agronomy Journal*, **86**, 243-246.
- XUAN T. (2002) Varietal differences in allelopathic potencial of alfalfa. *Journal Agronomy and Crop Science*, **188**, 2-7.

Efecto del estrés hídrico sobre el contenido de compuestos fenólicos en *Festuca rubra*

Effect of drought stress on phenolic compounds of *Festuca rubra*

B.R. VÁZQUEZ DE ALDANA / B. GONZÁLEZ RODRÍGUEZ / A. GARCÍA CIUDAD / A. ÁLVAREZ PASCUA / B. GARCÍA CRIADO

Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC), Cordel de Merinas 40-52, 37008 Salamanca. beatriz.dealdana@irna.csic.es

Resumen: Los compuestos fenólicos y flavonoides son los metabolitos secundarios de más amplia distribución en las plantas. Tienen un importante papel en procesos fisiológicos y ecológicos y están involucrados en la resistencia de las plantas a distintos tipos de estreses. Además tienen propiedades antioxidantes de interés para la industria alimentaria. *Festuca rubra* es una gramínea perenne frecuente en los pastos de dehesa en la provincia de Salamanca. En este ambiente semiárido, las plantas tienen que soportar una larga sequía estival. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del estrés hídrico sobre el contenido de compuestos fenólicos en plantas de *Festuca rubra*. Se diseñó un ensayo en invernadero con dos ecotipos de *F. rubra* (ambos infectados por el hongo endofítico *Epichloë festucae*) y tres niveles de disponibilidad de agua. El efecto del estrés hídrico dependió del ecotipo considerado. En uno de los ecotipos se observó una disminución significativa de la producción de biomasa en hojas y raíces al aumentar el nivel de estrés. El incremento de estrés hídrico produjo además una disminución del contenido de fenoles totales y flavonoides en raíces, en el nivel más alto de estrés, mientras que la concentración de compuestos fenólicos totales en hojas no varió de forma significativa.

Palabras clave: flavonoides, gramíneas, raíces, biomasa, sequía.

Abstract: Phenolic compounds and flavonoids are among the most widely distributed secondary metabolites in the plant kingdom. They play an important role in physiological and ecological processes and they are involved in plant resistance to different types of stress. They also have antioxidant properties of interest to the food industry. *Festuca rubra* is a perennial grass common in pasture grasses in the province of Salamanca. In this semiarid environment, plants have to endure a long summer drought. The objective of this research was to determine the effect of water stress on the content of phenolic compounds in plants of *F. rubra*. We designed a greenhouse trial with two ecotypes of *F. rubra* (both infected with endophytic fungus *Epichloë festucae*) and three levels of water availability. The effect of water stress depended on the ecotype considered. In one of the ecotypes, the increase of water stress level produced a significant decrease in biomass production in leaves and roots. The increase of water stress also produced a decrease in total phenolic compounds and flavonoid contents in roots, while the concentration of phenolic compounds in leaves did not vary significantly.

Key words: flavonoids, grasses, root biomass, red fescue.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos y flavonoides son los metabolitos secundarios de más amplia distribución en las plantas. Tienen un importante papel en procesos fisiológicos y ecológicos y están involucrados en la resistencia de las plantas a distintos tipos de estrés (Treutter, 2005). Estos metabolitos tienen varias funciones de defensa y por tanto su biosíntesis en las plantas está inducida generalmente en respuesta a estímulos abióticos y bióticos como sequía, ozono, radiación UV, metales pesados o ataque de patógenos (Waterman y Mole, 1994). Por otro lado, los compuestos fenólicos tienen un papel importante en las interacciones planta-herbívoro incluyendo efecto insecticida, estimulación herbivorismo, toxicidad y resistencia a enfermedades. Aunque tradi-