



# Efectos alelopáticos de extractos acuosos de hojas de botón de oro [*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.] sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.)

Allelopathic effects of aqueous extracts of leaves of tree marigold (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) on seed germination and seedling growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.)

José Alberto Laynez Garsaball; Jesús Rafael Méndez Natera\*

Universidad de Oriente, Núcleo de Monagas, Escuela de Ingeniería Agronómica, Departamento de Agronomía, Campus "Los Guaritos", Maturín, Estado Monagas, Venezuela.

Recibido 23 abril 2013; Aceptado 10 septiembre 2013.

### Resumen

Algunos compuestos químicos liberados por las plantas tienen la capacidad de controlar la presencia de otras plantas en su entorno tanto de su propia especie como de otras, la alelopatía es un factor de importancia en la regulación de la estructura de las comunidades vegetales, resultando crucial para un apropiado desarrollo agrícola un mejor entendimiento de estas relaciones. La investigación tuvo por objeto determinar los efectos de extractos acuosos del follaje del botón de oro (*Tithonia diversifolia*) sobre germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), cultivar Parris Island. Se preparó un extracto al 15 % p/v con hojas de plantas de botón de oro, se dejó reposar por 48 h y luego se obtuvo por dilución extractos al 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 % p/v evaluándoseles pH y conductividad eléctrica ( $S.cm^{-1}$ ). La siembra se realizó en bandejas cubiertas con una doble capa de papel absorbente sobre la que se colocó 25 semillas/bandeja. Fueron regadas dos veces diarias con los extractos foliares. El tratamiento control recibió agua corriente. El diseño estadístico fue bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La cosecha de las plántulas se efectuó a los 14 días después de la siembra. El pH disminuyó y la conductividad eléctrica se incrementó con los aumentos en la concentración de los extractos foliares. La germinación se vio afectada negativamente por los extractos. Se demostró un efecto reductor sobre el crecimiento general de las plántulas de lechuga.

**Palabras clave:** Alelopatía, extractos acuosos, hojas, *Tithonia diversifolia*, *Lactuca sativa*.

### Abstract

Some chemical compounds released by plants can control the presence of other plants in their environment both of their own species and different ones, allelopathy is an important factor in regulating the structure of plant communities, a better understanding of these relationships is critical for appropriate agricultural development. The objective was to determine the effects of aqueous extracts of leaves of tree marigold (*Tithonia diversifolia*) on seed germination and seedling growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivar Parris Island. A 15% w/v extract was prepared with leaves of tree marigold gold, it was allowed to stand for 48 h. After, diluting extracts at 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0% w/v were obtained and pH and electrical conductivity ( $S.cm^{-1}$ ) were determined. Sowing was carried out in trays covered with a double layer of absorbent paper on which were placed 25 seeds/tray. Irrigation was applied twice per day using leaf extracts. The control treatment received tap water. A randomized complete block design was used with four replications. Seedlings were harvested at 14 days after sowing. pH decreased and electrical conductivity increased with increases in the concentration of leaf extracts. The germination was negatively affected by extracts. A lowering effect was observed on the overall growth of lettuce seedlings.

**Keywords:** Allelopathy, aqueous extracts, leaves, *Tithonia diversifolia*, *Lactuca sativa*.

\* Autor para correspondencia

Email: [jmendezn@cantv.net](mailto:jmendezn@cantv.net) (J. Méndez)

## 1. Introducción

Luego de que Molisch (1937) definiera la alelopatía como el ataque químico de una planta sobre otra cuyo crecimiento inhibe, se ha reformulado el termino en diferentes oportunidades. Rice (1984) la definió como la interacción química planta-planta, incluyendo dentro del término planta a microorganismos y dentro del término interacción tanto efecto estimulador como inhibidor por la producción de compuestos químicos liberados en el ambiente. Medeiros (1990) señala que la mayoría de estos compuestos provienen de metabolitos secundarios y están simultáneamente relacionados a mecanismos de defensa de las plantas contra ataques de microorganismos e insectos. Choesin y Boerner (1991), presentan a la alelopatía como la ciencia que estudia cualquier proceso que involucre metabolitos, preferentemente secundarios, de origen vegetal o microbiano, que influyen en el crecimiento y desarrollo de sistemas biológicos.

Se ha sugerido que la alelopatía es un factor importante en la regulación de la estructura de las comunidades vegetales y en la velocidad de crecimiento de las plantas, y ha sido atribuida a flavonoides, estructuras fenólicas y terpenoides (Whittaker y Feeny 1971; Wardle *et al.*, 1992; Cazón *et al.*, 2000). Los metabolitos secundarios pueden actuar como inhibidores o facilitadores de la germinación, del crecimiento sobre otras plantas y sobre ellas mismas (Warrag 1995).

El botón de oro pertenece a la familia Asteracea, la cual posee unas 15 mil especies distribuidas por todo el mundo. El género *Tithonia* comprende diez especies originarias de Centro América. *Tithonia diversifolia* se registra en el Sur de México, Guatemala, Honduras, Salvador, Costa Rica, Panamá, Cuba, Colombia y Venezuela (Ríos, 1999). Es conocido que algunas asteráceas poseen sustancias alelopáticas que les brindan un eventual poder invasor. Juárez y Cazón (2003)

determinaron que el flavonoide 5,3'-dihidroxi-7,4'-dimetoxiflavona encontrado en el extracto clorofórmico de tallos y hojas de *Tithonia tubaeformis* como uno de los metabolitos responsables del efecto autotóxico observado en esta especie.

El acrecentamiento en el uso de *T. diversifolia* para varios fines tales como cercas vivas, barreras rompe viento, jardinería, apicultura; alimentación animal: ganado, conejos, ovejas y cerdos, también medicinales, entre otros, pero principalmente el referido a la mejora en producción de cultivos, en Kenya se le emplea como abono verde en el cultivo de maíz (Wanjau, 1998) y en igual forma en Filipinas para el arroz, requiere un mejor conocimiento de su potencialidad alelopática a los fines de poder descartar su interferencia en los procesos de producción agrícola.

El objetivo fue determinar el efecto alelopático de las hojas de *T. diversifolia* en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechuga.

## 2. Material y Métodos

### Ubicación del ensayo

La investigación se realizó en el Laboratorio de Semillas del Postgrado de Agricultura Tropical de la Universidad de Oriente, Maturín, Estado Monagas, Venezuela. Se trabajó con el botón de oro como especie donadora, se estudió la acción de extractos foliares de esta planta sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de lechuga cv. Parris Island como especie receptora.

### Preparación de los extractos acuosos

Se recolectaron hojas del botón de oro a partir de plantas en estado de floración ubicadas a los márgenes del camino de acceso a las parcelas experimentales del *Campus* Universitario "Los Guaritos" sin tráfico de vehículos. Primeramente las hojas se deshidrataron a temperatura ambiente por 24 h, y después en estufa, 72 h a 50 °C, luego se cortaron en trozos no

mayores de 3 cm y licuadas en agua sin llegar a pulverizar durante aproximadamente 10 s, obteniéndose un extracto al 15 % p/v, luego se dejó en reposo por 48 h en recipientes de vidrio tapados. Posteriormente, se separó el líquido de la parte sólida por medio de un filtrado en papel filtro Whatman 1 y con este extracto se prepararon por dilución extractos al 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 % p/v. Para el tratamiento control se empleó agua corriente. A cada dilución de extracto se le determinó el potencial hidrogénico (pH) y la conductividad eléctrica (CE) en mmhos  $\text{mm}^{-1}$  utilizando cuatro repeticiones en cada caso.

#### **Efecto de los extractos sobre el cultivo**

Las semillas se dispusieron en bandejas de aluminio de 17,5 cm largo, 11,0 cm ancho y 2,5 cm alto, previamente desinfectadas con cloro comercial conteniendo hipoclorito de sodio 5,25%. Cada bandeja recibió una capa de dos hojas de papel absorbente, y sobre esta 25 semillas/bandeja, para un total de 100 semillas por tratamiento por cuatro repeticiones en el laboratorio. Se realizaron dos riegos diarios, uno en la mañana y el otro en la tarde, con los extractos de los tratamientos humedeciendo el papel de las bandejas con ayuda de un aspersor manual. La cosecha de las plántulas para su evaluación se realizó a los 14 días después de la siembra (DDS).

#### **Diseño experimental**

Se utilizó un diseño estadístico de bloques completos al azar, con cinco tratamientos definidos por las concentraciones anteriores, con cuatro repeticiones, 25 plántulas por unidad experimental y 100 por tratamiento.

#### **Variables evaluadas**

A los 14 días después de la siembra se evaluaron los caracteres: porcentaje de germinación, altura de la plántula (cm), longitud de la radícula (cm), diámetros del tallo (mm) y de la radícula (mm), pesos frescos y secos (estufa a 70 °C por 72 h)

del vástago (g) y de la radícula (g) y las relaciones altura de la plántula/longitud de la radícula, diámetro del tallo/diámetro de la radícula, peso fresco del vástago/peso fresco de la radícula y peso seco del vástago/peso seco de la radícula.

#### **Análisis estadístico**

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza y de regresión. El nivel de significación fue 5%. Se utilizaron los programas estadísticos Statistix versión 8, SPSS versión 19 y Excel 2010.

#### **Ensayo previo de los potenciales generados por los extractos**

Dado que la presencia de sales en los extractos genera un componente osmótico que pudiese enmascarar la posible actividad alelopática actuando como un factor negativo adicional al componente alelopático afectando de esta manera los parámetros evaluados, fue llevado a cabo un ensayo previo para determinar si los potenciales generados por los extractos acuosos foliares de *T. diversifolia* producían algún efecto osmótico sobre el cultivo de lechuga. Para ello, fue establecido para cada concentración de extracto foliar el potencial osmótico respectivo: 0; -0,012; -0,020; -0,029 y -0,036 MPa, los cuales correspondieron a los potenciales osmóticos de las concentraciones de los extractos foliares a 0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 % p/v, respectivamente, evaluadas en la presente investigación y posteriormente, dichos potenciales osmóticos fueron reproducidos o simulados con soluciones osmotocantes creadas con sacarosa y evaluados sobre la germinación y crecimiento de la lechuga.

### **3. Resultados y discusión**

#### **Potencial de hidrogeniones (pH) y conductividad eléctrica (CE)**

El análisis de varianza y de regresión para el pH de los extractos acuosos foliares (Tabla 1) señala diferencias significativas en las fuentes de variación concentración y

sus componentes de regresión lineal, cuadrática y cúbica ( $p \leq 0,05$ ).

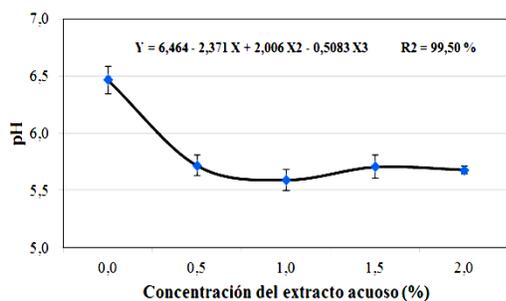
En la Figura 1 se observa el análisis de regresión para el pH de los extractos foliares. La respuesta fue cúbica, los extractos presentaron valores de pH inferiores al testigo (agua corriente) y parecidos entre sí. En la Tabla 1 se presenta el análisis de varianza y de regresión para la CE de los extractos del Botón de oro. Se presentaron diferencias significativas para las fuentes de variación concentración y sus componentes de regresión lineal, cuadrática y cúbica ( $p \leq 0,05$ ). La Figura 2 muestra el análisis de regresión para la CE de los extractos. La respuesta fue cúbica, la conductividad aumentó en la medida en que se incrementó la concentración del extracto.

**Tabla 1**

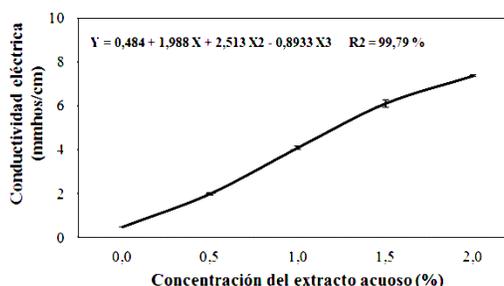
Análisis de varianza y de regresión para el pH y la CE de los extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*)

Fuente de variación	GL	Cuadrados Medios	
		pH	CE
Bloques	3	0,009 ns	0,017 ns
Concentración	4	0,512 *	32,205 *
Regresión Lineal	1	0,992 *	127,735 *
Regresión Cuadrática	1	0,811 *	0,098 *
Regresión Cúbica	1	0,233 *	0,718 *
Efecto Residual	1	0,010 ns	0,270 *
Error Experimental	12	0,009	0,005
Total	19		
CV (%)		1,59	1,84

\*: Significativo ( $p \leq 0,05$ ), ns: No significativo ( $p > 0,05$ ), GL = Grados de libertad.



**Figura 1.** Análisis de regresión para los valores de potencial hidrógeno (pH) de los extractos acuosos foliares del botón de oro (*Tithonia diversifolia*), utilizados en el ensayo con lechuga (*Lactuca sativa*).



**Figura 2.** Regresión para la conductividad eléctrica (CE, en mmhos/mm,) de los extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*), utilizados en el ensayo con lechuga (*Lactuca sativa*).

El pH varió muy poco entre el testigo 0% de extracto (pH = 6,5) y las concentraciones de extractos acuosos utilizadas, 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0% (pH = 5,7; 5,6; 5,7 y 5,7, respectivamente), la poca variabilidad permite suponer que no existió efecto de este parámetro sobre la germinación de los aquenios y el crecimiento de las plántulas. Pattnaik y Misra (1987) señalaron que se manifiestan efectos depresores sobre la germinación y crecimiento de las plantas con pH menor a 3 o igual o superior a 9. Della Penna *et al.* (2009) indicaron que según la International Seed Testing Association, los valores de pH entre 6,5 y 7,5 son considerados los ideales para la germinación de la mayoría de las especies. Los valores de pH obtenidos en este estudio fueron ligeramente ácidos, mientras que el testigo estuvo dentro del rango mencionado. Salter y McIlvaine (1920), reportaron que semillas de alfalfa, maíz, trébol rojo, soja y trigo colocadas sobre papel de filtro en placas de Petri no mostraron diferencias estadísticamente significativas en la germinación entre pH 3 a 8. Valores de pH similares indicó Gatti *et al.* (2004) al evaluar la germinación de lechuga cv. Grand Rapids con la actividad alelopática de extractos acuosos (0, 25, 50, 75 y 100%) de cada órgano de la planta de *Aristolochia esperanzae*, encontrando que en las características físico-químicas de los extractos, los valores de pH (determinados con la mayor concentración de extracto de cada órgano) fluctuaron entre los

diferentes órganos entre 5,1 y 5,6; verificando una baja variación entre los valores e indicando una baja acidez. De igual forma, valores de pH cercanos señaló Aquila (2000), quien encontró una variación de pH entre 5,1 y 6,4 para extractos de *Ilex paraguarienses* sobre lechuga.

La CE se incrementó progresivamente con el aumento de la concentración del extracto (0,48; 1,87; 4,28; 5,98 y 7,40 mmhos cm<sup>-1</sup> para 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%, respectivamente). Iguales resultados indicaron Laynez y Méndez (2006) al evaluar la CE de extractos acuosos del follaje del corocillo (*Cyperus rotundus* L.) utilizados para estudiar el efecto sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) de la variedad Arapatol S-15 y encontraron que la CE se incrementó con el aumento de la concentración de los extractos a 0,10; 0,60; 1,00; 1,30 y 1,70 mmhos.cm<sup>-1</sup>, para las concentraciones de extractos de 0; 0,5; 1,0; 1,5 y 2,0%, respectivamente, sugiriendo altas concentraciones de sales o sustancias químicas liberadas a partir de las hojas de la maleza en estudio, también se observó un incremento en la germinación de las semillas con respecto al testigo en la concentración de 0,5 y 1,0%, para posteriormente disminuir hasta alcanzar la

concentración de 1,5%, momento a partir del cual tendió a estabilizarse.

En el estudio previo para determinar si los potenciales generados por los extractos acuosos foliares de *T. diversifolia* producían algún efecto osmótico sobre el cultivo de lechuga, se observó que los potenciales osmóticos asociados a los extractos no ejercieron efecto negativo sobre la germinación y el crecimiento de la parte aérea de la planta. Por lo que en la actual investigación también se descarta la interferencia del componente osmótico de los extractos sobre los resultados observados. Similares resultados indicaron Martin *et al.* (1990) estudiando el efecto de los residuos de maíz, soya, avena y heno de hierbas mezcladas; encontraron que la CE de los extractos de los residuos varió de 1,56 a 4,98 mmhos.cm<sup>-1</sup>; concluyeron que no hubo una relación aparente entre la CE, la germinación y el crecimiento de maíz.

### Efecto de los extractos sobre la germinación

#### Porcentaje de germinación

En la Tabla 2 se presenta el análisis de varianza y de regresión para este parámetro. Se presentaron diferencias significativas para las fuentes de variación concentración y sus componentes de regresión lineal, cuadrática y cúbica ( $p \leq 0,05$ ).

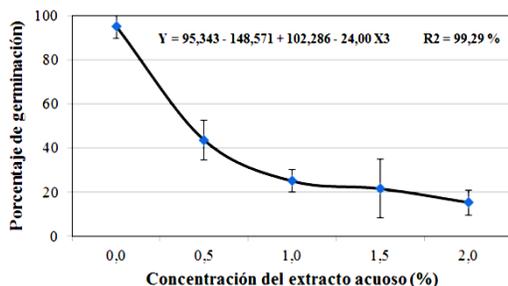
**Tabla 2**

Análisis de regresión para porcentaje de germinación (PG), altura de la plántula (AP) (cm), longitud de la radícula (LR) (cm) y relación AP/LR (RAP/LR) en lechuga (*Lactuca sativa*).

Fuente de Variación	GL	Cuadrados Medios			
		PG	AP	LR	RAP/LR
Repetición	3	118,13 ns	0,10007 ns	0,170963 ns	0,09109 ns
Concentración	4	4274,80 *	0,91639 *	0,652388 *	0,26366 ns
Reg. Lineal	1	13249,60 *	3,46332 *	2,318423 *	
Reg. Cuadrática	1	3210,29 *	0,03159 ns	0,028802 ns	
Reg. Cúbica	1	518,40 *	0,16770 ns	0,036603 ns	
Efecto residual	1	120,914 ns	0,00296 ns	0,225723 ns	
Error Experimental	12	56,133	0,07396	0,069428	0,18896
Total	19				
C.V. (%)		18,64	8,51	15,61	21,95

\*: Significativo ( $p \leq 0,05$ ), ns: No significativo ( $p > 0,05$ ), GL = Grados de libertad.

La Figura 3 muestra el análisis de regresión para el porcentaje de germinación de los aquenios de lechuga. La respuesta fue cúbica, la germinación se redujo conforme aumentó la concentración del extracto, el mayor efecto inhibitor se presentó en las concentraciones de 1,0; 1,5 y 2,0 %, siendo muy similares entre sí. La germinación de los aquenios de lechuga disminuyó al incrementar la concentración de los extractos del botón de oro. Reducciones en la germinación de aquenios y en la velocidad de dicho proceso han sido señaladas por Periotto *et al.* (2004) al evaluar los efectos alelopáticos de tallos y hojas de *Andira humilis* en la germinación y crecimiento de *Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids con extractos acuosos a concentraciones de 0, 4, 8, 12 y 16 % (p/v) y encontrar que sólo la concentración de 16 % inhibió la germinación en lechuga. La velocidad de germinación en lechuga experimento una reducción significativa con los extractos de tallos y hojas a concentraciones iguales y superiores a 8% p/v.



**Figura 3.** Análisis de regresión para el porcentaje de germinación (%) de aquenios de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

Rimando *et al.* (2001) encontraron que el ácido *p*-cumárico, un conocido compuesto aleloquímico, inhibió la germinación de plántulas de lechuga a una concentración de 1 mM. También ha sido observado efecto alelopático de extractos de plantas medicinales sobre la germinación de

lechuga. Maia *et al.* (2011) indicaron acción alelopática de *Mentha x villosa* sobre lechuga relacionando los monoterpenos presentes en las especies del género *Mentha* como los responsables de dicha actividad. Según Souza *et al.* (2009), los monoterpenos son componentes mayoritarios de los aceites esenciales de un gran número de especies y han sido relacionados como aleloquímicos eficaces con efecto tóxico sobre la germinación de semillas, siendo responsables de causar de acuerdo a Gershenzon *et al.* (2000) daños a nivel de membrana y en los procesos respiratorios celulares dado que pueden ser secuestrados por las estructuras secretoras de las mismas.

En los trabajos de alelopatía es común también no observar efecto alelopático sobre la germinación, pero sí sobre los parámetros de crecimiento. Andrade *et al.* (2009) estudiaron el posible efecto alelopático de extractos acuosos foliares de *Cyperus rotundus* L. sobre lechuga sin encontrar reducciones o estímulo en el porcentaje de germinación bajo ninguna de las concentraciones probadas, mientras que para la mayoría de las otras especies evaluadas (brócoli, mostaza, repollo, nabo, rábano y coliflor) este parámetro fue reducido a partir de la concentración de 70%. Adicionalmente, los extractos redujeron el crecimiento de la parte aérea y el sistema radicular en todas las especies, y en el caso de la lechuga la radícula se redujo a partir de la concentración de 10 %, disminuyendo la longitud con el incremento de las concentraciones, mientras que la parte aérea de esta especie sufrió reducción del crecimiento apenas en las concentraciones más altas (90 y 100%) en un 42,2 y 64,4%, respectivamente.

Es notorio el hecho de que la lechuga siendo considerada la especie modelo más usada en bioensayos alelopáticos, debido a su rápida germinación y alta sensibilidad a los aleloquímicos, junto al tomate, el cual también ha mostrado ser sensible a la actividad alelopática aunque es usado en menor grado, no sufra en ocasiones efecto

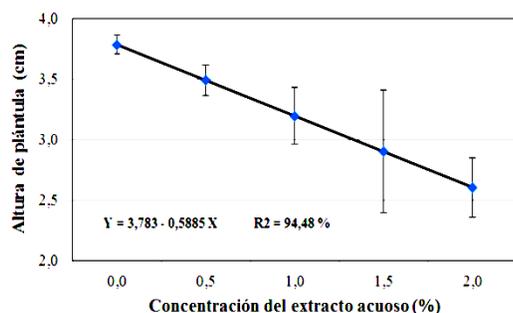
alguno sobre los parámetros evaluados, encontrándose posiblemente la explicación en una variación tanto en la composición de los extractos, como en la concentración de aleloquímicos según las variaciones climáticas conforme la época del año, tipo de suelo, edad de la planta y la especie, y también en el hecho de que la mayoría de los ensayos evalúa porcentaje de germinación sin reparar el posible efecto alelopático sobre la velocidad de este proceso.

### Efecto de los extractos sobre el crecimiento

#### Altura de la plántula (cm)

El análisis de varianza y de regresión (Tabla 2) señala diferencias significativas solo en las fuentes de variación concentración y su componente de regresión lineal ( $p \leq 0,05$ ).

En la Figura 4 se observa el análisis de regresión para la altura de las plántulas de lechuga. La respuesta fue lineal, incrementos en las concentraciones de los extractos resultaron en decrecimientos proporcionales de este parámetro.

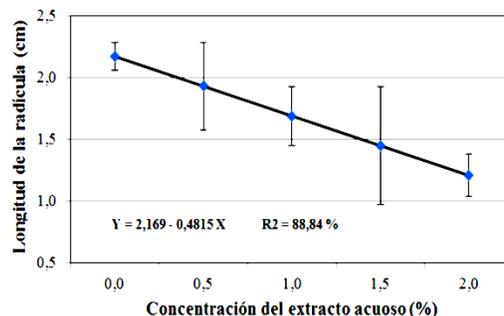


**Figura 4.** Análisis de regresión para la altura (cm) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

#### Longitud de la radícula (cm)

El análisis de varianza y de regresión (Tabla 2) señala diferencias significativas únicamente en las fuentes de variación concentración y su componente de regresión lineal ( $p \leq 0,05$ ).

En la Figura 5 se muestra el análisis de regresión para la longitud de la radícula de las plántulas de lechuga. La respuesta fue lineal, se presentó una tendencia a disminuir el parámetro proporcionalmente al aumento de la concentración de extracto.



**Figura 5.** Análisis de regresión para la longitud de la radícula (cm) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

#### Relación altura de la plántula/longitud de la radícula

En la Tabla 2 es mostrado el análisis de varianza y de regresión para este parámetro, el cual no arrojó diferencias significativas para las concentraciones ni para los bloques ( $P > 0,05$ ). De este resultado se desprende la no existencia de influencia de las concentraciones de extracto utilizadas en el ensayo sobre esta relación. El promedio general para la relación fue 1,98.

#### Diámetro del tallo (mm)

En la Tabla 3 es mostrado el análisis de varianza y de regresión para este parámetro, el cual no arrojó diferencias significativas para las concentraciones ni para los bloques ( $P > 0,05$ ). De este resultado se desprende la no existencia de influencia de las concentraciones de extracto utilizadas en el ensayo sobre el diámetro del tallo. El promedio general fue 0,63 mm.

**Tabla 3**

Análisis de regresión para el diámetro del tallo (DT) (mm), diámetro de la radícula (DR) (mm) y relación DT/DR (RDT/DR) en lechuga (*Lactuca sativa*).

Fuente de Variación	GL	Cuadrados Medios		
		DT	DR	RDT/DR
Repetición	3	0,00115 ns	0,00239 ns	0,00786 ns
Concentración	4	0,00186 ns	0,00159 ns	0,00661 ns
Error Experimental	12	0,00227	0,00151	0,00283
Total	19			
C.V. (%)		7,61	5,22	6,33

\*: Significativo ( $p \leq 0,05$ ), ns: No significativo ( $p > 0,05$ ), GL = Grados de libertad

**Diámetro de la radícula (mm)**

En el análisis de varianza y de regresión (Tabla 3) no se presentaron diferencias significativas en las fuentes de variación para bloques y concentración ( $P > 0,05$ ), el promedio general fue 0,75 mm. Esto indica que ninguna de las concentraciones de extracto afectó significativamente el diámetro de la radícula.

**Relación diámetro del tallo/diámetro de la radícula**

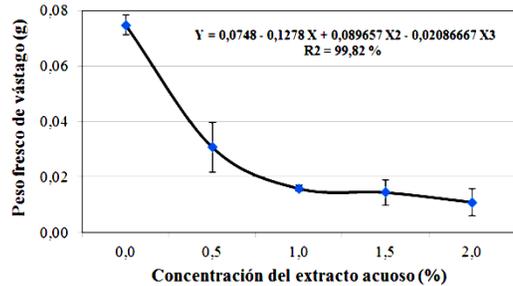
En la Tabla 3 es mostrado el análisis de varianza y de regresión para este parámetro, el cual no arrojó diferencias significativas para las concentraciones ni para los bloques ( $P > 0,05$ ). De este resultado se desprende la no existencia de influencia de las concentraciones de extracto utilizadas en el ensayo sobre esta relación. El promedio general fue 0,84.

**Peso fresco del vástago (g)**

La Tabla 4 muestra el análisis de varianza y de regresión para este parámetro. Se presentaron diferencias significativas para las fuentes de variación concentración y

sus componentes de regresión lineal, cuadrática y cúbica ( $p \leq 0,05$ ).

La Figura 6 muestra el análisis de regresión para el peso fresco del vástago de las plántulas de lechuga. La respuesta fue cúbica, el peso disminuyó a medida que incrementó la concentración del extracto, observándose el mayor efecto inhibitor en las concentraciones de 1,0; 1,5 y 2,0 %, siendo muy similares entre sí.



**Figura 6.** Análisis de regresión para el peso fresco del vástago (g) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

**Tabla 4**

Análisis de regresión para peso fresco del vástago (PFV) (g), peso fresco radícula (PFR) (g) y relación PFV/PFR (RPFV/PFR) en lechuga (*Lactuca sativa*)

Fuente de Variación	GL	Cuadrados Medios		
		PFV	PFR	RPFV/PFR
Repetición	3	0,000077 ns	0,00006343 ns	1,388533 ns
Concentración	4	0,002820 *	0,00007211 ns	8,367675 *
Reg. Lineal	1	0,008306 *		0,180043 ns
Reg. Cuadrática	1	0,002562 *		30,620033 *
Reg. Cúbica	1	0,000392 *		0,239445 ns
Efecto residual	1	0,000020 ns		2,431180 ns
Error Experimental	12	0,000015	0,00003224	1,969142
Total	19			
C.V. (%)		13,17	73,46	31,41

\*: Significativo ( $p \leq 0,05$ ), ns: No significativo ( $p > 0,05$ ), GL = Grados de libertad.

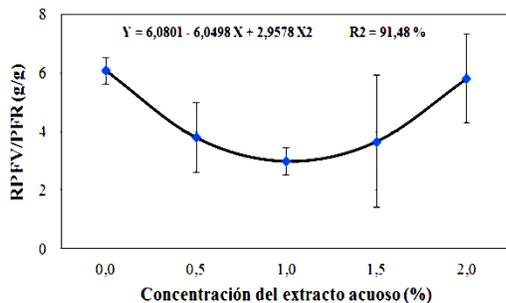
### Peso fresco de la radícula (g)

En el análisis de varianza y de regresión (Tabla 4) no se presentaron diferencias significativas en las fuentes de variación para bloques y concentración ( $P > 0,05$ ), el promedio general fue 0,00773 g. Esto indica que ninguna de las concentraciones de extracto afectó significativamente el peso fresco de la radícula.

### Relación peso fresco del vástago/peso fresco de la radícula

El análisis de varianza y de regresión (Tabla 4) señala diferencias significativas solo en las fuentes de variación concentración y su componente de regresión cuadrática ( $p \leq 0,05$ ).

La Figura 7 muestra el análisis de regresión para la relación peso fresco del vástago/peso fresco de la radícula de las plántulas de lechuga. La respuesta fue cuadrática, la relación disminuyó con respecto al testigo con las concentraciones de 0,5 y 1,0 %, para luego aumentar con las concentraciones de 1,5 y 2,0 %, aunque siempre por debajo del testigo, el valor mínimo de 2,99 se obtuvo con una concentración de extracto de 1,02%.



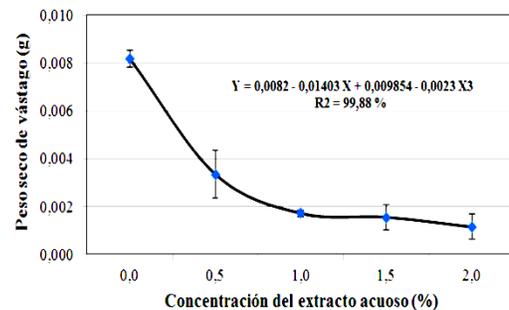
**Figura 7.** Análisis de regresión para la relación peso fresco del vástago/peso fresco de la radícula (PFV/PFR) (g/g) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

### Peso seco del vástago (g)

El análisis de varianza y de regresión (Tabla 5) señala diferencias significativas

en las fuentes de variación concentración y sus componentes de regresión lineal, cuadrática y cúbica ( $p \leq 0,05$ ).

En la Figura 8 se observa el análisis de regresión para el peso seco del vástago de las plántulas de lechuga. La respuesta fue cúbica, el carácter disminuyó con el incremento de la concentración del extracto, el mayor efecto inhibitor se presentó en las concentraciones de 1,0; 1,5 y 2,0%, siendo similares entre sí.



**Figura 8.** Análisis de regresión para el peso seco del vástago (g) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

### Peso seco de la radícula (g)

La Tabla 5 del apéndice muestra el análisis de varianza y de regresión para este parámetro. Se presentaron diferencias significativas únicamente para las fuentes de variación concentración y su componente de regresión lineal ( $p \leq 0,05$ ). La Figura 9 muestra el análisis de regresión para el peso seco de la radícula de las plántulas de lechuga. La respuesta fue lineal, se presentó una tendencia a disminuir el peso proporcionalmente al aumento de la concentración del extracto.

### Relación peso seco del vástago/peso seco de la radícula

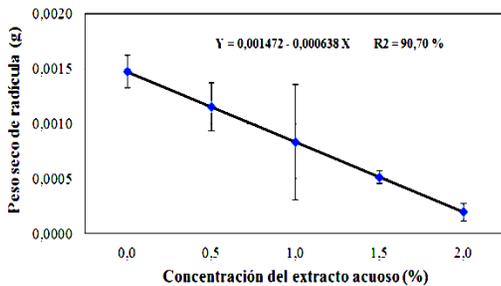
El análisis de varianza y de regresión (Tabla 5) señala diferencias significativas solo en las fuentes de variación concentración y sus componentes de regresión cuadrática y cúbica ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabla 5**

Análisis de regresión para peso seco del vástago (PSV) (g), peso seco radícula (PSR) (g) y relación PSV/PSR (RPSV/PSR) en lechuga (*Lactuca sativa*)

Fuente de Variación	GL	Cuadrados Medios					
		PSV		PSR		RPSV/PSR	
Repetición	3	0,00000090	ns	0,000000057	ns	4,69403	ns
Concentración	4	0,00003415	*	0,000001122	*	12,58570	*
Reg. Lineal	1	0,00010112	*	0,000004070	*	0,13110	ns
Reg. Cuadrática	1	0,00003055	*	0,000000106	ns	43,66612	*
Reg. Cúbica	1	0,00000476	*	0,000000243	ns	6,34412	*
Efecto residual	1	0,00000017	ns	0,000000068	ns	0,20146	ns
Error Experimental	12	0,00000020		0,000000074		1,31571	
Total	19						
C.V. (%)		14,04		32,58		27,23	

\*: Significativo ( $p \leq 0,05$ ), ns: No significativo ( $p > 0,05$ ), GL = Grados de libertad.

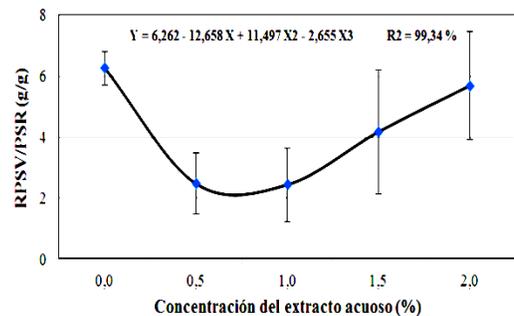


**Figura 9.** Análisis de regresión para el peso seco de la radícula (g) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

La Figura 10 muestra el análisis de regresión para la relación peso seco del vástago/peso seco de la radícula de las plántulas de lechuga. La respuesta fue cúbica, la relación se redujo con respecto al testigo con las concentraciones de 0,5 y 1,0 %, luego incrementó con las concentraciones de 1,5 y 2,0 %, pero siempre por debajo del testigo.

Los valores de los parámetros de crecimiento altura de la plántula, longitud de la radícula, pesos fresco y seco del vástago y peso seco de la radícula, disminuyeron conforme incrementó la concentración de extracto acuoso foliar. Respuestas similares fueron obtenidas por Maraschin y Alves (2006), quienes estudiaron el potencial alelopático de

extractos acuosos foliares al 2 y 4% extraídos con agua caliente y fría de *Cecropia pachystachya*, *Peltophorum dubium*, *Psychotria leiocarpa*, *Sapium glandulatum* y *Sorocea bonplandii* sobre el crecimiento de lechuga y encontraron que los extractos de *P. leiocarpa* fueron capaces de reducir el tamaño del hipocótilo de las plántulas de lechuga tratadas, en relación al control.



**Figura 10.** Análisis de regresión para la relación peso seco del vástago/peso seco de la radícula (RPSV/PSR) (g/g) de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), a los 16 días después de la siembra bajo diferentes concentraciones de extractos acuosos foliares del Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) en condiciones de laboratorio.

Por otra parte, Periotto *et al.* (2004), observaron reducciones en el desarrollo de plántulas de lechuga en todas las concentraciones de extractos de tallos y hojas de *Andira humilis* evaluadas (0, 4, 8,

12 y 16 % p/v). Los autores también señalan que las plantas afectadas presentaron hipocótilos de tamaño reducido, coñas radiculares oxidadas y oscurecidas, daños en las raíces primarias y una coloración ennegrecida de los cotilédones e hipocótilos.

La elección de las variables de crecimiento de plántulas jóvenes se debió al hecho de que los sitios conocidos de acción para algunos aleloquímicos han sido reportados para incluir la división celular, germinación del polen, la absorción de nutrimentos, la fotosíntesis y la función enzimática específica, con efectos comúnmente citados de reducción de la germinación de semillas y el crecimiento de las plántulas (Ferguson y Rathinasabapath, 2009).

En la presente investigación, los metabolitos existentes en los extractos del botón de oro no sólo redujeron el crecimiento de las plántulas bajo estudio, sino que también causaron alteraciones en su aspecto morfológico. En las plántulas de lechuga se apreció una acción tóxica de los aleloquímicos presentes en el extracto al 2,0%, constatada en la apariencia de las plántulas por la aparición de una debilidad en los tallos que producía la pérdida de su porte erecto, seguido de un oscurecimiento de los tejidos y finalmente la muerte de las plántulas. Anomalías morfológicas y pérdida de vigor de las plántulas de lechuga han sido previamente señaladas por Medeiros y Luchesi (1993) con el uso de extractos acuosos de *Vicia sativa*; Aqüila (2000) con extractos de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil; Gatti *et al.* (2004) ante extractos de *Aristolochia esperanzae*, principalmente en el sistema radicular, donde las raíces primarias se presentaron atrofiadas, defectuosas, y en algunos casos, prácticamente ausentes. Algunas plántulas también presentaron raíces cortas y desproporcionadas en relación a otras estructuras de la planta; Andrade *et al.* (2009) con extractos de hojas secas de *Cyperus rotundus* que dieron lugar a anomalías en las

plántulas pero principalmente en el sistema radicular.

Se ha señalado algunos compuestos en el botón de oro con propiedades alelopáticas. Baruah *et al.* (1994) determinaron los efectos inhibitorios de dos lactonas sesquiterpénicas tagitinina A y tagitinina C y un flavonoide hispidulina aislados de *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas de rábano, pepino y cebolla. El flavonoide hispidulina fue más tóxico para las semillas de los cultivos evaluados y la actividad de tagitinina C fue más débil que la de tagitinina A y la hispidulina. Mientras que Otusanya y Ilori (2012) realizaron una investigación sobre la composición fitoquímica de los extractos acuosos en metanol y agua de *T. diversifolia* y su efecto fitotóxico sobre el crecimiento de *Sorghum bicolor* y encontraron que los análisis fitoquímicos indicaron la presencia de sustancias bioactivas tales como alcaloides, saponinas, glucósidos, flavonoides, taninos, terpenoides y fenoles en el extracto metanólico y los últimos cinco aleloquímicos en el extracto de agua y observaron que el extracto metanólico fue más fitotóxico que el extracto de agua y concluyeron que estos aleloquímicos fueron fitotóxicos para la germinación y crecimiento del sorgo y sugirieron que la maleza pudiera ser removida de los campos donde el botón de oro se desarrollara en asociación con cultivos agrícolas.

Han sido mencionados algunos compuestos capaces de alterar negativamente el crecimiento de la lechuga. Krautmann, *et al.* (2001) estudiaron la capacidad de un metabolito extraído de las partes aéreas de *Tridax procumbens* L., el carbonilo de lactona, el cual es un compuesto de conocida actividad biológica: herbicida, bactericida, funguicida, entre otras, para afectar la germinación y el crecimiento de la lechuga var. *Grand rapids*. Aunque la lactona ensayada tuvo escasa influencia en el porcentaje de las semillas germinadas, fue evidenciada una notable disminución de la longitud total de la plántula a medida

que aumento la concentración de la lactona. Al comparar los valores obtenidos en el testigo agua y en 1.000 ppm se apreció una reducción de aproximadamente 60% de la longitud. La determinación del índice mitótico, permitió constatar que las altas concentraciones de lactona disminución del número de células en división de los meristemas radiculares lo que explicó la disminución de la longitud de las plántulas. Rimando *et al.* (2001) observaron que el ácido *p*-cumárico fue fitotóxico para esta planta a concentraciones de 10, 5 y 3 mM.

Periotta *et al.* (2004) señalaron a los taninos como las sustancias presentes en las hojas de *Andira humilis* responsables de los efectos inhibitorios en la germinación y crecimiento de lechuga. Andrade *et al.* (2009) atribuyeron la fitotoxicidad observada en el crecimiento de la parte aérea y la radícula de lechuga a compuestos fenólicos como el isocurcumenol presentes en *Cyperus rotundus* L. No obstante, también ha sido reportado un estímulo en el crecimiento de lechuga por Cândido *et al.* (2010) quienes encontraron que la fracción semipurificada de extracto etanólico (etanol-agua) de la parte aérea de *Senna occidentalis* estimuló el crecimiento del hipocótilo en lechuga.

Tongma *et al.* (1998) encontraron una disminución en el crecimiento del vástago y de las raíces en las especies de plantas evaluadas cuando se sembraron en suelos previamente sembrados con botón de oro, sin embargo, la germinación de las semillas no fue afectada, el agua separada del mismo suelo también inhibió el crecimiento del vástago y raíces y un extracto de hojas de botón de oro aplicado al suelo también redujo el crecimiento del vástago raíces, pero el grado de disminución varió entre las especies de plantas evaluadas. Musyimi *et al.* (2012) concluyeron que los extractos acuosos de hojas frescas de botón de oro tienen efectos estimulantes como inhibitorios sobre la germinación y crecimiento de las

plantas de *Cleome gynandra*. Oyerinde *et al.* (2009) encontraron ambos efectos del botón de oro en maíz.

Las alteraciones observadas en la germinación y crecimiento de la lechuga fueron causadas por sustancias alelopáticas presentes en los extractos del botón de oro, y permiten asegurar que la interferencia de los extractos en la germinación y en el crecimiento de los cultivos en estudio fue disociada de cualquier efecto del pH, conductividad eléctrica y potencial osmótico, indicando por lo tanto actividad alelopática en el botón de oro sobre lechuga a partir de extractos acuosos foliares.

Finalmente, conforme a los resultados obtenidos en el presente estudio, es posible sugerir que el botón de oro presenta un potencial alelopático sobre la lechuga, sin embargo, una afirmación definitiva requiere profundizar la investigación a nivel de campo donde se consideren aspectos que pudieran afectar la actividad de los compuestos como la incidencia de los factores ambientales y la variabilidad de los suelos, y sus efectos sobre la degradación o alteración de los compuestos, debido a que la ocurrencia de este fenómeno a nivel de laboratorio tiende a exagerar el comportamiento más allá de lo observado en el campo.

#### 4. Conclusiones

El pequeño rango de variación del pH y la conductividad eléctrica, así como los bajos valores relativos descartan el efecto de estos factores sobre los resultados inhibitorios observados. Las hojas del botón de oro mostraron una influencia alelopática sobre la germinación de semillas y crecimiento de las plántulas de lechuga, disminuyendo a medida que la concentración de extracto aumentó.

#### Referencias bibliográficas

- Andrade, H. M.; Bittencourt, A. H. C.; Vestena, S. 2009. Potencial alelopático de *Cyperus rotundus* L. sobre especies cultivadas. Ciênc. Agrotec. 33: 1984-1990.
- Aquíla, M. E. A. 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e

- crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. Iheringia, Série Botânica 53: 51-66.
- Baruah, N. C.; Sarma J. C.; Barua N. C.; Sarma S.; Sharma R. P. 1994. Germination and growth inhibitory sesquiterpene lactones and a flavone from *Tithonia diversifolia*. Phytochemistry 36 (1): 29-36.
- Cândido, A. C. S.; Schmidt, V.; Laura, V. A.; Faccenda, O.; Hess, S. C.; Simionatto, E.; Lopes M. T. 2010. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinoideae): bioensaios em laboratório. Acta Bot. Bras. 24 (1): 235-242.
- Cazón, A. V.; Viana, M. L.; Gianello, J. C. 2000. Identificación de un compuesto alelopático de *Baccharis boliviensis* (Asteraceae) y su efecto en la germinación de *Trichocereus pasacana* (Cactaceae). Rev. Biol. Trop. 48: 47-51.
- Choesin, D. N.; Boerner, R. E. J. 1991. Allyl isothiocyanate release and the allelopathic potential of *Brassica napus* (Brassicaceae). Am. J. Bot. 78: 1083-1090.
- Della Penna, A. B.; Batro A.; Estévez P. 2009. Efectos alelopáticos de extractos acuosos de cerraja sobre la germinación y elongación radicular de achicoria y cebolla de verdeo. Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias. Volumen 15. Disponible en: <http://www.fcagr.unr.edu.ar/Investigacion/revista/rev15/3.htm>. Consultado 15 de enero de 2013.
- Ferguson, J. J.; Rathinasabapathi B. 2009. Allelopathy: How plants suppress other plants. University of Florida IFAS Extension, HS 994.
- Gatti, A. B.; Perez, S. C. J.; Lima, M. 2004. Atividade alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esparanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. Acta Bot. Bras. 18 (3): 459-472.
- Gershenzon, J.; Mcconkey, M. E.; Croteau, R. B. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. Plant Physiology 122: 205-213.
- Juárez, V. D.; Cazón, A. V. 2003. Autotoxicidad en *Tithonia tubaeformis* como un posible mecanismo de control a la invasión. Ecol. Austral. 13 (2): 133-138.
- Krautmann, M.; Turbay, S.; Riscala, E. 2001. Efectos alelopáticos de *Tridax procumbens* L. Dominguezia 17 (1): 13-21.
- Laynez, J. A.; Méndez, J. R. 2006. Efectos de extractos acuosos del follaje del corocillo (*Cyperus rotundus* L.) sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv. Arapatol S-15. Idesia (Chile) 24 (2): 61-75.
- Maia, J. T. L. S.; Bonfim, F. P. G.; Barbosa, C. K. R.; Guilherme, D. O.; Honório, I. C. G.; Martins, E. R. 2011. Influência alelopática de hortelã (*Mentha x villosa* Huds.) sobre emergência de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.). Rev. Bras. Pl. Med. 13 (3): 253-257.
- Maraschin, F.; Alves, M. E. 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). Acta Botânica Brasileira 20 (1): 61-69.
- Martin, V. L.; McCoy, E. K.; Dick, W. A. 1990. Allelopathy of crop residues influences corn seed germination and early growth. Agronomy Journal 82 (3): 555-560.
- Medeiros, A. R. M. 1990. Alelopatia: Importância e suas aplicações. Hortisul 1: 27-32.
- Medeiros, A. R. M.; Lucchesi, A. A. 1993. Efeitos alelopáticos da ervilhaca (*Vicia sativa* L.) sobre a alface em testes de laboratório. Pesquisa Agropecuária Brasileira 28 (1): 9-14.
- Molisch, H. 1937. The influence of one plant on another: Allelopathy. Scientific Publishers, India.
- Musyimi, D. M.; Kahihu, S. W.; Buyela, D. K.; Sikuk, P. A. 2012. Allelopathic effects of Mexican sunflower [*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray] on germination and growth of Spiderplant (*Cleome gynandra* L.). J. of Biodiversity and Environmental Sciences 2 (8): 26-35.
- Otusanya, O.; Ilori O. 2012. Phytochemical screening and the phytotoxic effects of aqueous extracts of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) a. Gray. International Journal of Biology 4 (3): 97-101.
- Oyerinde, R. O.; Otusanya, O. O.; Akpor, O. B. 2009. Allelopathic effect of *Tithonia diversifolia* on the germination, growth and chlorophyll contents of maize (*Zea mays* L.). Scientific Research and Essay 4 (12): 1553-1558.
- Pattnaik, S. K.; Misra, M. K. 1987. Morphology and germination characteristics of *Aristida setacea* seeds. Acta Botánica Hungarica 33 (3-4): 413-420.
- Periotto, F.; Juliano Gualtieri De Andrade-Perez, S. C.; Salgueiro Lima, M. I. 2004. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. Acta Bot. Bras. 18 (3): 425-430.
- Rice, E. L. 1984. Allelopathy. 2<sup>nd</sup>. Academic Press. New York, USA. 422 p.
- Rimando, A. M.; Olofsson, M.; Dayan, F. E.; Duke, S. O. 2001. Searching for rice allelochemicals: an example of bioassay-guided isolation. Agron. J. 93: 16-20.
- Ríos, C.I. 1999. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray, una planta con potencial para la producción sostenible en el trópico. P. 217-230. In: Agroforestería para la Producción Animal en América Latina. (Sánchez M.D. y Rosales, M., Eds). Estudio FAO Producción y Sanidad Animal N° 143. FAO, Roma. Italia. p. 311
- Salter, R. M.; McIlvaine, T. C. 1920. Effect of reaction of solution on germination of seeds and on growth of seedlings. J. Agr. Res. 19: 73-95.
- Souza, F. A. P. S.; Vasconcelos, M. A. M.; Zoghbi, M. G.; Cunha, B. R. L. 2009. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. Acta Amazonica 39 (2): 389-396.
- Tongma, S.; Kobayashi, K.; Usui, K. 1998. Allelopathic activity of Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia*) in soil. Weed Sci. 46 (4): 432-437.
- Wanjau, S. 1998. Transferencia de biomasa: Cosecha gratis de fertilizante. Boletín de ILEIA. 25 p.
- Wardle, D. A.; Nicholson K. S.; Ahmed, M. 1992. Comparison of osmotic and allelopathic effects of grass leaf extracts on grass seed germination and radicle elongation. Plant Soil, 140: 315-319.
- Warrag, M. O. A. 1995. Autotoxic potential of foliage on seed germination and early growth of mesquite (*Prosopis Juliflora*). J. Arid. Environ. 31: 415-421.
- Whittaker, R. W.; Feeny, P. P. 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. Science 171 (3973): 757-769.