

Actividad alelopática del extracto etanólico de *Cymbopogon nardus* L. sobre germinación y crecimiento radicular de *Phaseolus vulgaris* L.

Paredes, S.¹; Gayozo, E.¹

¹ Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay.

E-mail del autor: chachiparedes@gmail.com

Actividad alelopática del extracto etanólico de *Cymbopogon nardus* L. sobre germinación y crecimiento radicular de *Phaseolus vulgaris* L. *C. nardus* es una Poaceae, fuente importante de aceites esenciales, sin embargo, los estudios de su posible acción alelopática son escasos. Se llevó a cabo un estudio analítico experimental con un diseño en bloques al azar, para lo cual se realizaron tres concentraciones del extracto de *C. nardus* (5, 2,5 y 1,25 mg.mL⁻¹). Los datos obtenidos fueron analizados empleando los tests estadísticos de ANOVA, Kruskal-Wallis y la prueba post-hoc de Dunn. Los porcentajes de germinación no evidenciaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos con rangos de germinación del 68,3-83,3%. En cuanto a la longitud radicular se registró aumento significativo ($p < 0,05$) en tratamiento con la concentración de 5 mg.mL⁻¹. Dichos resultados indican que el extracto etanólico de *C. nardus*, a las concentraciones evaluadas, no presentan actividades alelopáticas sobre la germinación, sin embargo, se observó actividad alelopática a la concentración de 5 mg.mL⁻¹ sobre el crecimiento radicular de las semillas de *P. vulgaris*.

Palabras clave: *Cymbopogon nardus*, alelopatía, germinación, radícula, *Phaseolus vulgaris*

Allelopathic activity of *Cymbopogon nardus* L. ethanol extract on germination and root growth of *Phaseolus vulgaris* L. *C. nardus* is a Poaceae that is an important source of essential oils, however, studies of its possible allelopathic action are rare. An experimental analytical study was carried out with a random block design, for which three concentrations of ethanolic extract of *C. nardus* (5, 2.5 and 1.25 mg.mL⁻¹) were made. The data obtained were analyzed using the statistical tests of ANOVA, Kruskal-Wallis and Dunn's post-hoc test. The percentages of germination didn't show significant differences ($p > 0.05$) between treatments with germination ranges of 68.3-83.3%. However root length, had a significant increase ($p < 0.05$) in the treatment with a concentration of 5 mg.mL⁻¹. These results indicate that the ethanol extract of *C. nardus*, at evaluated concentrations, don't present allelopathic activities on germination, however, allelopathic activity was observed at the concentration of 5 mg.mL⁻¹ on root growth of *P. vulgaris* seeds.

Keywords: *Cymbopogon nardus*, allelopathy, germination, radicle, *Phaseolus vulgaris*

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las interacciones entre la comunidad biológica de un agroecosistema puede brindar pautas para mejorar los sistemas agrícolas (Anaya, 1996). En este sentido la alelopatía es una

alternativa potencial en el manejo de dichos componentes, al proporcionar la base científica de las rotaciones y asociaciones de los cultivos, con lo cual se logra un mayor y mejor aprovechamiento del suelo (Bowen, 1991).

Steviana, Vol. 10(2), 2018 pp. 17 – 23

Original recibido el 31 de octubre de 2018

Aceptado el 21 de noviembre de 2018

Paredes S. & E. Gayozo. Actividad alelopática de *Cymbopogon nardus* L. sobre *Phaseolus vulgaris* L.

En todo fenómeno alelopático existe una planta (donador) que libera compuestos químicos al medio ambiente por una determinada vía (lixiviación, descomposición de residuos), los cuales al ser incorporados por otra planta (receptora) provocan un efecto perjudicial o benéfico sobre la germinación, el crecimiento o desarrollo de esta última, los compuestos alelopáticos que desencadenan el proceso se denominan compuestos, agentes o sustancias alelopáticas (Blanco, 2006). Estas reacciones naturales tienen múltiples efectos, que van desde la inhibición o estimulación de los procesos de crecimiento de las plantas vecinas, hasta la inhibición de la germinación de semillas (Singh, 1989).

Pocas poaceas presentan en sus hojas aceites esenciales, las más importantes son precisamente las del género *Cymbopogon* (Soto et al., 2002). Los aceites esenciales de estas especies son ampliamente utilizados en sabores, fragancias, cosméticos, jabones, detergentes y perfumería debido a su típico aroma a limón. Los aceites esenciales de *Cymbopogon* y los componentes presentes en el mismo, por ejemplo, citral, geraniol, citronelol, citronelal y piperitona, han sido conocidos por ser impresionantes antibacterianos, antifúngicos, con actividades insecticidas y repelentes de insectos por un largo tiempo, sin embargo, la importancia biológica y farmacológica de estos aceites esenciales se ha expandido rápidamente en los últimos diez años; se han descrito actividades como anti-inflamatorio, anticancerígeno, capturador de radicales libres y otras actividades biológicas útiles (Ganjewala, 2009). Sin embargo, acerca de las actividades alelopáticas de las mismas los estudios son muy escasos, por lo que esta investigación tiene como objetivo

principal evaluar el efecto alelopático del extracto etanólico de hojas de *C. nardus* sobre la germinación y crecimiento radicular de semillas de *P. vulgaris*, con el fin de poder determinar la concentración a la que el extracto de *C. nardus* ejerce efecto alelopático positivo o negativo sobre semillas de *P. vulgaris*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del extracto etanólico de hojas de *Cymbopogon nardus*

El material vegetal utilizado fue colectado a finales del mes de marzo del año 2018 (S. Paredes, 31 - Herbario FACEN), todas las hojas provenían de un mismo ejemplar ubicado en la ciudad de Villa Elisa, departamento Central, Paraguay. Estas fueron determinadas taxonómicamente con ayuda de la base de datos botánicos TROPICOS (Tropicos, 2018).

Las hojas se secaron a sombra, temperatura ambiente (25°C) y en un lugar cerrado para evitar la degradación de los compuestos presentes en las hojas (Hostettmann et al., 2008).

Las hojas secas se pulverizaron, con ayuda de un molino manual obteniendo un triturado que fue tamizado con una malla de 0,05 mm a fin de obtener un producto homogéneo (Sleiman et al., 2017).

Se pesó 150 g del triturado y se disolvió en Etanol 98° en una proporción de 200 mL por cada 15 g y se dejó reposar durante 20 días con agitación diaria. Luego se filtró y se concentró la misma evaporando el solvente a 80° C con constante agitación. El extracto crudo obtenido fue de 5,65 g, de los cuales se pesaron 0,5 g y se disolvió con 1 mL de Tween 80 al 10%, se mezcló con 20 mL de agua destilada y se sónico durante 7 minutos. Se obtuvo una solución madre de 5 mg.mL⁻¹

a partir de la cual se realizaron diluciones seriadas

Tratamiento de semillas de *P. vulgaris*

La desinfección de las semillas se realizó con dos lavados en hipoclorito de sodio durante tres minutos y un lavado con etanol 70% durante cinco minutos, se enjuagó tres veces con agua destilada durante dos minutos, se dejaron secar a temperatura ambiente y se almacenaron hasta su utilización.

Los tratamientos se realizaron en placas de Petri previamente desinfectadas, sobre papel secante previamente autoclavado y esterilizado (121° C, 1 atm, 30 minutos). A cada placa de cultivo se agregó 5 mL de las diluciones y control (agua destilada), se sembró 20 semillas por placa y tres repeticiones por tratamiento, totalizando 240 semillas (García et al., 2006).

Además, se realizó una repetición del ensayo anterior realizando previamente un pre-tratamiento, el cual consistió en embeber las semillas en su respectivo tratamiento durante cinco minutos, a este grupo se les denominó semillas con pre-tratamiento.

Las placas sembradas se llevaron a la germinadora con temperatura promedio de 25° ± 3° C durante 7 días, con controles diarios y se realizaron remojos de 2,5 mL de tratamiento a las 48 y 120 horas. Una vez transcurrido los 7 días se realizó el conteo de la germinación y la medición de la longitud de la radícula.

Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos fueron analizados empleando el test de ANOVA para determinar diferencias entre los tratamientos (con previa verificación de supuestos).

Los datos de la longitud del crecimiento radicular fueron analizados mediante el test de Kruskal Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) y la prueba post-hoc de Dunn (Dunn, 1964) para determinar diferencias entre medias. Para los mismos se empleó el paquete estadístico Past versión 3.0 (Hammer et al., 2001). Los gráficos estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism 6.01, La Jolla California USA.

RESULTADOS

La germinación de semillas de *P. vulgaris* sin pre-tratamiento fue de 73,3 a 83,3 %, el testigo (agua destilada) presentó un promedio de germinación de 73,3 %, el tratamiento con la concentración de 1,25 mg.mL⁻¹ exhibió un porcentaje de germinación por debajo del testigo siendo este de 68,3%, con la concentración de 2,5 mg.mL⁻¹ se observó un porcentaje de 81,7%, la concentración de 5mg.mL⁻¹ obtuvo mayor porcentaje de germinación siendo este del 83,3%. Para semillas con pre-tratamiento el promedio de germinación fue de entre 70 a 80%, el testigo presentó un porcentaje de germinación del 70%, con la concentración 1,25 mg.mL⁻¹ exhibió un crecimiento promedio de 75%, con la concentración 2,5 mg.mL⁻¹ mostró un crecimiento promedio de 80% siendo este el porcentaje mayor, con la concentración de 5 mg.mL⁻¹ presentó un porcentaje de germinación del 70% al igual que el testigo, sin embargo estos resultados no evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 1).

En cuanto al crecimiento radicular en semillas sin pretratamiento el testigo obtuvo un crecimiento promedio de 1,87cm, con la concentración de 1,25 mg.mL⁻¹ se

Paredes S. & E. Gayozo. Actividad alelopática de *Cymbopogon nardus* L. sobre *Phaseolus vulgaris* L.

Tabla 1: Porcentaje de germinación por tratamiento

Tratamiento	Concentración	Sin pre-tratamiento (%)	Con pre-tratamiento (%)
Agua destilada	—	73,3	70
	1,25 mg.mL ⁻¹	68,3 ^{NS}	75 ^{NS}
Extracto etanólico de <i>C. nardus</i>	2,5 mg.mL ⁻¹	81,7 ^{NS}	80 ^{NS}
	5 mg.mL ⁻¹	83,3 ^{NS}	70 ^{NS}

NS: no significativo ($p > 0,05$); *: significativo ($p < 0,05$)

registró un promedio de 1,85 cm, con la concentración 2,5 mg.mL⁻¹ se observó un promedio de longitud radicular de 2,02 cm y por último el tratamiento con la concentración de 5 mg.mL⁻¹ se tuvo un promedio de 2,23 cm, siendo este último el tratamiento significativamente mayor ($p < 0,05$) en cuanto al crecimiento radicular en comparación a los demás tratamientos (Tabla 2, Fig. 1. A)

En cambio, en el crecimiento radicular de las semillas con pre-tratamiento, el testigo presentó un crecimiento radicular promedio de 2,22 cm, con la concentración de 1,25 mg.mL⁻¹, demostró un promedio de 1,84 cm siendo este significativamente menor que el testigo, con la concentración de 2,5 mg.mL⁻¹, se obtuvo un promedio de 2,09 cm y con la concentración de 5 mg.mL⁻¹ tuvo un crecimiento radicular promedio de 2,83 cm exhibiendo la longitud promedio significativamente mayor ($p < 0,05$) en comparación con los demás tratamientos (Tabla 2, Fig. 1. B)

Resultados semejantes obtuvieron Da Silveira et al. (2016) utilizando concentraciones correspondientes al 100%, 75%, 50% 25% y 0% del extracto acuoso de hojas frescas citronela (*Cymbopogon nardus*), las cuales no exhibieron actividad

alelopática sobre el porcentaje de germinación de *Carthamus tinctorius* presentando un índice germinativo de 12-13%; tampoco se evidenció efectos alelopáticos significativos sobre caracteres como altura, longitud de raíz, masa fresca de la parte aérea, masa fresca de raíz y masa seca de la parte aérea y de raíz.

No obstante en trabajos similares donde también se utilizaron extractos acuosos de hojas frescas de *C. nardus*, en concentraciones: 0; 7,5; 15 y 30% se observó potencial alelopático sobre el desarrollo de *Lactuca sativa* donde las mismas presentaron reducción lineal de la germinación y del crecimiento radicular a medida que aumentaba la concentración del extracto; también se evidenció aparición de plántulas anormales y la reducción de la longitud de la parte aérea en la concentración más alta (Rodríguez & Araujo, 2016).

De igual manera, Suwitchayanon et al. (2013) constataron que el extracto metanólico de las raíces de *C. nardus* tuvieron efectos inhibidores del crecimiento en ocho especies de plantas: alfalfa (*Medicago sativa*), Berro (*Lepidium sativum*), Lechuga (*Lactuca sativa*), Canola (*Brassica napus*), Pasto dentado (*Echinochloa*

Tabla 2: Longitud promedio radicular por tratamiento

Tratamiento	Concentración	Sin pre-tratamiento (cm)	Con pre-tratamiento (cm)
Agua destilada	—	1,87	2,22
	1,25 mg.mL ⁻¹	1,85 ^{NS}	1,84*
Extracto etanólico de <i>C. nardus</i>	2,5 mg.mL ⁻¹	2,02 ^{NS}	2,09 ^{NS}
	5 mg.mL ⁻¹	2,23*	2,83*

NS: no significativo ($p > 0,05$); *: significativo ($p < 0,05$)

crusgalli), raigrás italiano (*Lolium multiflorum*), arrocillo (*Echinochloa colonum*) y hierba timotea (*Phleum pratense*). Las concentraciones requeridas para un 50% de inhibición del crecimiento de estas plantas oscilaron entre 0,007 y 0,090 g.mL⁻¹.

Gayardo & Cruz-Silva (2013) verificaron que el extracto acuoso de las hojas frescas pasto del limón (*Cymbopogon citratus*) en concentraciones de 0, 5, 10, 15 e 30% no exhibió actividad alelopática sobre la germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) obteniendo porcentajes de germinación entre 91-99%; no obstante se apreció un efecto significativo en la longitud de la raíz de las plántulas de tomate en las concentraciones de 10, 15 e 30% en comparación con el control, las mismas variaron de entre 2,16-3,22 cm. También se observó reducción del porcentaje de germinación, velocidad de germinación y desarrollo radicular del extracto acuoso de hojas de esta especie sobre semillas de *Lactuca sativa* a medida que aumentaba la concentración del extracto (Sousa et al., 2010).

Alves et al. (2004) evaluaron el aceite extraído de las hojas *C. citratus* en con-

centraciones de 0,001, 0,01, 0,1 e 1,0%, observaron que el porcentaje de germinación fue de 0,0 % en concentraciones iguales o superiores al 0,1% y se apreció una reducción discreta en las concentración del 0,001% y del 0,01%, presentando el 5% y el 8% de reducción de la germinación, respectivamente. Además los aceites esenciales en suspensión acuosa inhibió completamente la germinación de semillas de *Digitaria horizontalis*, *Sorghum halepense*, *Bidens pilosa*, *Euphorbia heterophylla* y *Raphanus raphanistrum* (Valarini et al., 1996).

CONCLUSIÓN

Los resultados indican que el extracto etanólico de *C. nardus* no presentó efectos alelopáticos significativos sobre la germinación de semillas de *P. vulgaris*, en todos los tratamientos se apreció un porcentaje elevado de germinación de entre 70%-83%.

En cuanto al crecimiento radicular se observó un crecimiento promedio de entre 1,85 - 2,83 cm de longitud, en este caso el

Paredes S. & E. Gayozo. Actividad alelopática de *Cymbopogon nardus* L. sobre *Phaseolus vulgaris* L.

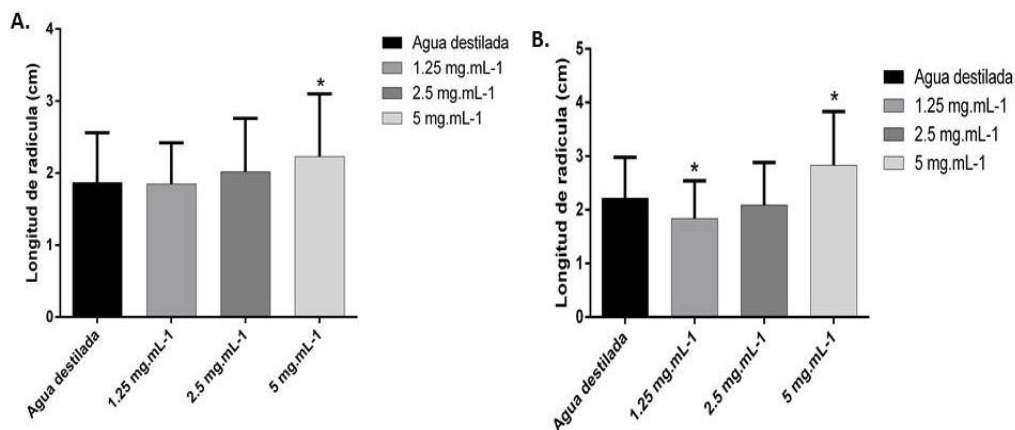


Fig. 1: Longitud promedio radicular de semillas de *P. vulgaris*. **A.** Sin pretratamiento **B.** Con pretratamiento. *: significativo ($p < 0,05$)

tratamiento con la concentración de 5 mg.mL⁻¹ fue la que evidenció promedios significativamente mayores ($p < 0,05$) en comparación con los demás, esto en semillas con pre-tratamiento así como para semillas sin pretratamiento con el extracto etanólico empleado. Esta investigación genera un aporte científico al conocimiento de las actividades alelopáticas de la especie *C. nardus* en *P. vulgaris*; se recomienda realizar ensayos similares in vitro e in vivo con semillas de otra especies de importancia económica para el país.

REFERENCIAS

- Alves, M. D. C. S., Medeiros Filho, S., Innecco, R. & Torres, S. B. (2004). Alelopatía de extratos volátiles na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. *Pesquisa agropecuaria brasileira* 39(11): 1083-1086. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100204X2004001100005>
- Anaya, A. L. (1996). La alelopatía, sutil mecanismo de comunicación química entre organismos. *Revista UNAM*, 5 (23): 61-6.
- Blanco, Y. (2006). La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Rev. Cultivos tropicales* 27(3): 5-16.
- Bowen J. E. (1991). La alelopatía en la producción agrícola. *Revista Agricultura de las Américas* 40(1): 8-11.
- Da Silveira, L., Secco, D., Santos, R. F., Muller, F., Lewandoski, C. F., & de Lima Bueno, P. (2016). Potencial alelopático de Citronela (*Cymbopogon*) sob a germinação, emergência e desenvolvimento inicial de plantas de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.). *Acta Iguazu* 5(3): 25-38.
- Dunn, O. J. (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 6: 241-252.
- Ganjewala, D. (2009). *Cymbopogon* essential oils: chemical compositions and bioactivities. *International Journal of*

- Essential Oil Therapeutics* 3(2-3): 56-65.
- García, S. T., Aro, M. H., Isidró, M. P., y De Cupere, F. (2006). Efecto alelopático de *Phyla strigulosa* sobre germinación y crecimiento de cultivos. *Centro Agrícola* 33(2): 69.
- Gayardo, V. C. & Cruz-Silva, C. T. A. (2013). Potential alelopático do capim-limão sobre o desenvolvimento de tomate. *Journal of Agronomic Sciences, Umuarama* 2(1): 46-54.
- Hammer, O., Harper, D. A. T., & P. D. Ryan. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 1-9.
- Hostettmann, K., Gupta, M. P., Marston, A., & Queiroz, E. F. (2008). *Manual de estrategias para el aislamiento de productos naturales bioactivos*. Programa iberoamericano de Ciencia y Tecnología. CYTED.
- Kruskal, W.H. & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association* 47(260): 583-621.
- Rodríguez V. & Araujo C. T. 2016. Efeito alelopático de capim citronela sobre a germinação e o desenvolvimento de alface. *Cultivando o saber*. 9 (1): 113-124.
- Singh, M., Tamma, R. V., & Nigg, H. N. (1989). HPLC identification of allelopathic compounds from *Lantana camara*. *Journal of chemical ecology* 15 (1): 81-89. DOI: 10.1007 / BF02027775
- Sleiman, Y., Gayozo, E., & Torres, E. (2017). Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Chenopodium pilcomayense* Aellen. *Steviana* 9: 3-15.
- Soto Ortiz, R., Vega Marrero, G., & Tamajón Navarro, A. L. (2002). Instructivo técnico del cultivo de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (caña santa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 7(2): 89-95.
- Sousa, S. M., Silva, P. S., & Viccini, L. F. (2010). Cytogenotoxicity of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf (lemon grass) aqueous extracts in vegetal test systems. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 82(2): 305-311. <https://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000200006>
- Suwitchayanon, P., Pukclai, P., & Kato-Noguchi, H. (2013). Allelopathic activity of *Cymbopogon nardus* (Poaceae): A preliminary study. *Journal of Plant Studies* 2(2): 1-6. doi:10.5539/jps.v2v2p1
- Tropicos (2018). Missouri Botanical Garden, Saint Louis. [<http://www.tropicos.org>]
- Valarini, P. J., Frighetto, R. T. S., & Spadotto, C. A. (1996). Potential of the medicinal herbage *Cymbopogon citratus* for the control of pathogens and weeds in irrigated bean crop. *Científica (Jaboticabal)* 24(1): 199-214.