

Efecto alelopático de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud (Madero Negro)

Ivette Inostrosa S. y Luis A. Fournier O.
Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

(Recibido para su publicación el 21 de agosto de 1981)

Abstract: Allelopathic substances were found in vegetative and reproductive structures of *Gliricidia sepium*, a tropical legume widely used for shade in pastures and plantations of perennial crops. Aqueous extracts inhibited seed germination in *Bidens pilosa*, a weed and *Lycopersicon esculentum*, tomato; the effect was stronger when the plant parts were macerated. The allelopathic effect did not decrease during the dry season when these deciduous trees are phenologically active. The highest concentration of allelopathic substances was observed in the leaves and in the bark of the roots. An extract of *Gliricidia* leaves also inhibited germination of its own seeds. A phenolic substance, presumably protocatechic acid was tentatively identified from aqueous leaf extracts by means of paper chromatography. The presence of these allelopathic substances would suggest caution in using *Gliricidia sepium* as shade trees for perennial crops, while their extracts could be used as fungicides or wood preservatives.

El estudio de las sustancias alelopáticas ha despertado el interés de numerosos investigadores que han logrado demostrar la existencia de este tipo de compuestos tanto en plantas superiores, como en hongos y algas (Lines y Fournier, 1979; Lodhi, 1976; Rice, 1972; 1979 Sullivan e Ikawa, 1972; Whittaker y Feeny, 1971).

Hasta hace algún tiempo se consideraba la competencia como una de las relaciones bióticas de mayor importancia en la selección natural, pero hoy en día se le da casi igual valor a la alelopatía en el equilibrio dinámico de los ecosistemas.

Se han estudiado numerosos casos en que las plantas producen sustancias alelopáticas que podrían ser de utilidad en el combate de malas hierbas (Fisher, 1980). Estos efectos se presentan tanto en plantas cultivadas como en malas hierbas (Anaya y Gómez-Pompa, 1971; Carley y Watson, 1968; Coutinho y Hashimoto, 1971; Rice, 1979).

Putnam y Duke (1974) sugirieron que sería de interés incorporar un carácter alelopático a plantas cultivadas como *Cucumis sativus* L. para combatir sus propias malezas.

En el campo silvicultural también se han observado numerosos casos de alelopatía, tanto en árboles tropicales como en especies de las

zonas templadas (Lines y Fournier, 1979; Rice, 1979).

Es importante mencionar que en patología vegetal interviene también el fenómeno de alelopatía. Por ejemplo, Maia y Jiménez (1966) demostraron que los polifenoles presentes en el epicarpio del fruto de cacao, *Theobroma cacao*, son los que inhiben el desarrollo de *Phytophthora palmivora*.

En este trabajo se demuestra el efecto alelopático de diferentes partes vegetativas y reproductivas del árbol *Gliricidia sepium*, especie tropical que se emplea como sombra en cafetales y cacaotales, así como postes vivos en las cercas. Se informa también de la presencia en extractos acuosos de sus hojas de una sustancia presumiblemente fenólica (ácido protocatequico), de posible efecto alelopático.

MATERIAL Y METODOS

Esta investigación se llevó a cabo de junio de 1979 a noviembre de 1980 en los laboratorios de la Escuela de Biología, de la Universidad de Costa Rica, en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio.

Las muestras de *Gliricidia sepium* se obtuvieron en este mismo sitio a 1200 m de altura sobre el nivel del mar y en Ciudad Colón,

a 800 m. Se colectó material tanto en la época seca como en la lluviosa.

Las partes vegetativas y reproductivas de la planta se sometieron a extracción acuosa con y sin maceración durante 24 horas y en proporciones de peso fresco de tejido a un volumen de solvente previamente establecido. Se emplearon como indicadores de inhibición de germinación semillas de *Bidens pilosa* "moriseco" y *Lycopersicon esculentum*, "tomate". Las semillas, en número de 20-25, se colocaron en placas de Petri revestidas de papel de filtro. Para cada una de las pruebas se hicieron de 3-4 repeticiones y en cada placa se agregó 2,5 ml de extracto. Durante el curso de todos los experimentos las placas estuvieron en fotoperíodo normal en condiciones de laboratorio. Se realizaron varias de estas pruebas tanto durante la estación seca como lluviosa y se emplearon extractos de las siguientes partes de la planta: hojas, tallos, corteza de tallos, raíces, corteza de raíz, flores, frutos y semillas. Las concentraciones de los extractos empleados en los primeros ensayos fueron de 0, 100, 300 y 600 gm de material fresco por litro de agua, pero posteriormente se utilizó más la concentración de 600 gm/litro con maceración. En todas las pruebas los resultados fueron sometidos al análisis de variancia o a la prueba de "t de Student", según fuera el caso.

La determinación de las sustancias alélopáticas se llevó a cabo con cromatografía de papel, con base en extractos acuosos macerados; se utilizó para ese fin papel Whatman no. 1 y como solventes butanol, ácido acético y agua en proporciones de 4:1:5. Previamente se había llevado a cabo una prueba cualitativa para la determinación de la presencia de sustancias fenólicas.

RESULTADOS

En la Figura 1 se muestra el efecto de varias concentraciones de hojas de extractos acuosos de *Gliciridia sepium* sobre la germinación de las semillas de *Bidens pilosa*. Como se puede apreciar en esta figura, todos los extractos produjeron inhibición de las semillas, pero el efecto fue mayor cuando las hojas se maceraron. El análisis de variancia mostró un efecto altamente significativo para los dos extractos con maceración (300 y 600 gm/litro) y para la concentración de 600 gm/litro sin maceración; pero éste fue apenas significativo con la concen-

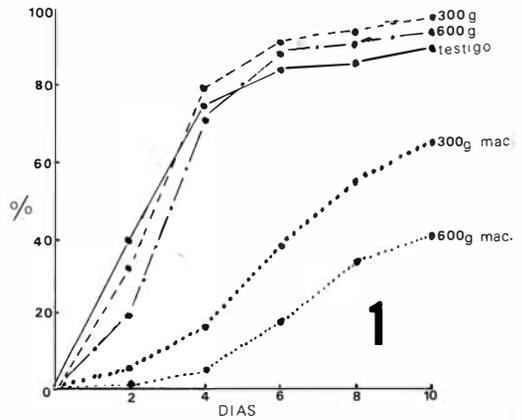


Fig. 1. Porcentaje de germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de hojas de *Gliciridia sepium* en diferentes concentraciones con y sin maceración. Se indican los días a partir del inicio del experimento.

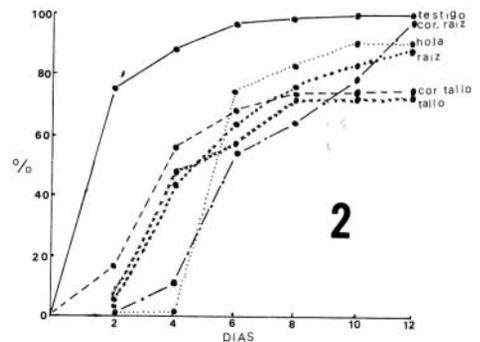


Fig. 2. Porcentaje de germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de diferentes partes vegetativas de *Gliciridia sepium* a una concentración de 600g/l con maceración.

tración de 300 gm/litro, sin maceración. Se observó también que el lavado de las semillas de *Bidens pilosa*, después de haber sido inhibidas, aumenta su poder germinativo.

En la Figura 2 se muestra la acción inhibitoria de los extractos de hojas, raíz, corteza de raíz, corteza de tallo y tallo sobre la germinación de semillas de *Bidens pilosa*. Este efecto fue altamente significativo a los seis días con los extractos de raíz, de corteza de raíz, y

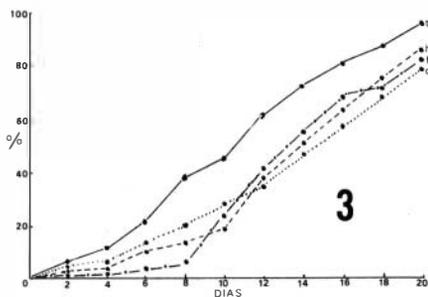


Fig. 3. Porcentaje de germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de diferentes partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium* a una concentración de 600 g/l con maceración.

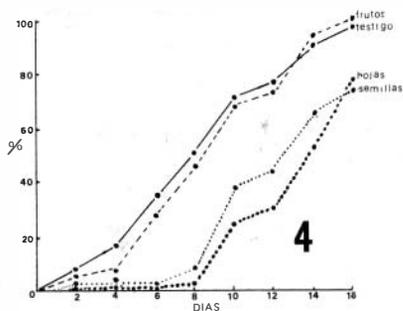


Fig. 4. Porcentaje de germinación de semillas de *Bidens pilosa* en extractos de hojas, semillas y frutos de *Gliricidia sepium* a una concentración de 600 g/l con maceración.

de tallo y apenas significativo con los extractos de hojas y de corteza de tallo. Este mismo experimento se llevó a cabo durante la estación lluviosa (setiembre de 1979) y en la estación seca (enero de 1980) con resultados bastante similares.

Durante la estación seca de 1980 también se hizo un experimento en el que se probó la acción inhibitoria de extractos de flores, frutos y semillas de *Gliricidia sepium* sobre la germinación de semillas de *Bidens pilosa*. El análisis de variancia de los datos obtenidos a los 10 días de haberse iniciado el experimento mostró que los extractos de flores, hojas y corteza de raíz tuvieron un efecto altamente significativo. Este mismo análisis realizado 10 días después indicó que a esa fecha sólo la corteza de raíz mantenía un efecto altamente significativo (Figura 3). El análisis de variancia de la Figura 4 permitió observar un efecto altamente significativo del extracto de hojas y significativo para los extractos de semillas y de frutos, 10 días después de haberse iniciado el experimento. Siete días después, sólo los extractos de hojas y de semillas tuvieron un efecto sobre la germinación y este fue apenas significativo.

Otra serie de experimentos mostró los siguientes resultados: cuando se aplica un extracto de hojas de *Gliricidia sepium* a sus propias semillas se puede apreciar un efecto inhibitorio durante los primeros 3-4 días altamente significativo, pero a los 17 días éste desaparece. También se observó que hay cierto efecto inhibitorio de las semillas de *Gliricidia sepium* en germinación sobre las semillas de *Bidens pilosa*. Este efecto se manifestó después de las 72 horas de germinación, lo que difiere

un tanto de lo que se observó con los extractos de otras partes de la planta. Con respecto al tomate, *Lycopersicon esculentum*, también se observó efecto inhibitorio en la germinación de sus semillas con extractos de *Gliricidia sepium*, aunque este efecto fue menor que en el caso de *Bidens pilosa*.

El análisis cromatográfico del extracto acuoso de hojas de *Gliricidia sepium* mostró en una concentración de 600 gm/litro, un Rf de 0,86, muy cercano al del ácido protocatéquico que es de 0,85; una sustancia fenólica de un grupo de sustancias que se presentan con frecuencia en compuestos alelopáticos.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En esta investigación se determinó que los extractos acuosos de partes vegetativas y reproductivas de *Gliricidia sepium* tienen un efecto alelopático sobre la germinación de las semillas de *Bidens pilosa* y *Lycopersicon esculentum* (Figs. 1, 2, 3, 4).

Se observó que el extracto de mayor concentración (600 gm/litro) fue el que tuvo mayor efecto inhibitorio. Es probable que la lluvia y el rocío actúen como solventes de las sustancias alelopáticas del follaje de esta planta y que al llegar al suelo éstas puedan acumularse y ejerzan una fuerte acción sobre las semillas y plántulas circundantes; como lo ha observado Lodhi (1976) en otras plantas. También se confirmaron las observaciones de otros investigadores sobre el efecto de la maceración en la efectividad de los extractos (Carley y Watson, 1968; Lines y Fournier, 1979). Esto probablemente se deba en buena parte al que al

desgarrar los tejidos vegetales se incorporan a la solución alelopática sustancias insolubles o poco solubles, que aumentan la capacidad inhibitoria.

Los extractos que mostraron mayor efecto alelopático fueron los de la corteza de raíz y las de hojas, tanto durante la estación lluviosa como la seca.

La actividad alelopática del madero negro durante la estación seca tiene buena relación con su activo comportamiento fenológico, ya que es una especie caducifolia que produce nuevo follaje durante esta estación, además de ser en esta época cuando florece y desarrolla mayormente sus frutos. Esta es una situación muy diferente a la observada por Lines y Fournier (1979) en *Cupressus lusitanica* Mill, una conífera perennifolia de poca actividad fenológica durante la época seca. Esto sugiere que la síntesis de las sustancias alelopáticas en el madero negro podrían ocurrir en la raíz y de ahí movilizarse al resto de la planta o bien que ésta ocurra en las hojas. Rice (1979) informa que en *Vicia faba* los fenoles y flavonoides se trasladan de las hojas a lo largo del tallo a una velocidad de 0,12 a 1,08 m/hr y que este movimiento se lleva a cabo por el floema, sin que se altere la naturaleza de las sustancias. La información sobre los sitios de síntesis o de almacenamiento de sustancias alelopáticas es bastante escasa, sin embargo, la mayor parte de los extractos empleados en este tipo de estudios son de hojas (Del Moral y Gates, 1971; Lodhi, 1978). Si la síntesis de las sustancias alelopáticas ocurre en las hojas, éstas se trasladarían de esos órganos a la raíz en donde podrían almacenarse en la corteza. Este aspecto de la síntesis y traslado de sustancias alelopáticas merece ser estudiado con más detalle.

El hecho que las semillas de madero negro en germinación tengan un efecto retardado sostenido sobre las de moriseco, se puede deber a que éstas no fueron maceradas y las testas de las semillas son un obstáculo para la salida de los exudados. Esta característica permite a las semillas mantener la liberación de sustancias alelopáticas por un tiempo más prolongado (Del Moral y Muller, 1970; Lines y Fournier, 1979; Lodhi, 1978).

El efecto autoalelopático de los extractos de hojas sobre las semillas en germinación del madero negro es un fenómeno que ha sido observado en pocas plantas y se considera que

tiene una influencia sobre la diversidad de las comunidades (Rice, 1979).

El madero negro ha sido estudiado en cierto detalle desde el punto de vista fitoquímico. Estos estudios han permitido la identificación en esta planta de algunas sustancias fenólicas y flavonas (Jurd, 1976; Manners y Jurd, 1979); pero no se ha probado el efecto alelopático de ninguna de ellas. En este estudio se identificó, de extractos acuosos de hojas, un fenol, presumiblemente el ácido protocatéquico. Es interesante anotar que Ibrahim y Towers (1959) determinaron que en un buen número de ericáceas se encuentran juntos el ácido salicílico ($C_7H_6O_3$) y el gentísico ($C_7H_6O_4$) y que el primero da origen al gentísico y al ácido 0-pirocatéquico. Podría ser que en *Gliricidia sepium* exista una vía semejante a ésta para la síntesis del ácido protocatéquico.

La presencia de sustancias alelopáticas en el madero negro hace que esta especie no sea muy recomendable como sombra para cultivos perennes, pero además plantea la necesidad de estudiar este efecto y su posible aplicación como un agente fungistático en el control de hongos en plantas de importancia económica o como sustancia preservante para madera. Es bueno recordar que Maia y Jiménez (1966) mostraron que los polifenoles presentes en el epicarpio del fruto de cacao tienen efecto fungistático y de la madera de *Gliricidia sepium*, que tiene gran resistencia a la podredumbre, se han extraído tanto flavonas como fenoles.

Parece ser que el madero negro tiene también cierta acción beneficiosa, ya que Daccarett y Blydestein (1968) observaron que en terrenos de pastoreo sombreados con este árbol se nota un aumento de los niveles de proteína del pasto. Esto se puede deber a la fijación de nitrógeno en los nódulos radicales de esta leguminosa, o a un efecto alelopático selectivo, al reducir la competencia de las malas yerbas con el pasto.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la valiosa colaboración que prestaron durante la realización de este trabajo los Profesores María Eugenia Herrera de Fournier, Maryssia Nassar de Cortéz y Eduardo Jiménez Sáenz, de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica.

RESUMEN

Se estudió el efecto alelopático de extractos acuosos de partes vegetativas y reproductivas de madero negro, *Gliricidia sepium* en la germinación de semillas de *Bidens pilosa* y *Lycopersicon esculentum*. La concentración de los extractos influyó en la inhibición de la germinación de estas semillas de modo que a mayor concentración el efecto aumentó. La maceración también mostró un aumento en la capacidad inhibitoria de los extractos.

Las hojas y la corteza de la raíz fueron las partes de la planta que presentaron mayor efecto alelopático. En esta especie no se observa estacionalidad en el efecto alelopático, pero sí autoaleopatía, ya que los extractos de hojas mostraron inhibición en la germinación de sus propias semillas. Se identificó tentativamente un fenol, el ácido protocatéuico, como constituyente del complejo alelopático. El efecto alelopático del madero negro, hace que este árbol no sea muy recomendable como sombra en cultivos perennes, pero podría tener aplicación en la extracción de productos naturales que podrían emplearse como fungicidas o preservantes de la madera.

REFERENCIAS

- Anaya, A.L. & A. Gómez-Pompa. 1971. Inhibición del crecimiento productivo por el "Piru" (*Schinus molle* L.) Rev. Soc. Mexicana Hist. Nat., No.32: 99-109.
- Bazzaz, F.A. 1975. Plant species diversity in old-field successional ecosystems in Southern Illinois. Ecology, 56: 485-488.
- Carley, H.E. & R.D. Watson. 1968. Effect of various aqueous plant extracts on seed germination. Bot. Gaz. 129: 57-62.
- Coutinho, L.M. & F. Hashimoto. 1971. Sobre o efeito inibitório da germinação de sementes produzido por folhas de *Calea cuneifolia* D.C. Ciencia e Cultura, 23: 759-764.
- Daccarett, M. & J. Blydenstein. 1968. La influencia de los árboles leguminosos y no leguminosos sobre el forraje que crece bajo ellos. Turrialba, 18: 405-409.
- Del Moral, R. & R.G. Gates. 1971. Allelopathic potential of the dominant vegetation of Western Washington. Ecology, 52: 1031-1037.
- Del Moral, R. & C.H. Muller. 1970. The allelopathic effects of *Eucalyptus camaldulensis*. Amer. Midl. Nat. 83: 254-282.
- Fisher, R.F. 1980. Allelopathy: a potential cause of regeneration failure. J. For., 78: 346-348.
- Ibrahim, R.K. & G.H.N. Towers. 1959. Conversion of salicylic acid to gentisic acid and o-pyrocatechic acid, all labeled with carbon-14, in plants, Nature, 184: 1803.
- Jurd, L. 1976. A phenolic isoflav-3-ene from *Gliricidia sepium*. Tetrahedron Letters, No.21: 1741-1744.
- Lines, Nuria & L.A. Fournier. 1979. Efecto alelopático de *Cupressus lusitanica* Mill., sobre la germinación de semillas de algunas hierbas. Rev. Biol. Trop., 27: 223-229.
- Lodhi, M.A.K. 1976. Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a lowland forest in controlling the productivity pattern of herbaceous growth. Amer. J. Bot., 63: 1-8. 1976.
- Lodhi, M.A.K. 1978. Allelopathic effects on decaying litter of dominant trees and their associated soil in a lowland forest community. Amer. J. Bot., 65: 340-344.
- Maia, R.H. & E. Jiménez. 1966. Importancia de las sustancias polifenólicas en el mecanismo fisiológico de la resistencia del cacao (*Theobroma cacao* L.) a *Phytophthora palmivora* Butl. Turrialba, 16: 319-329.
- Manners, G.D. & L. Jurd. 1979. Additional flavonoids in *Gliricidia sepium*. Phytochem, 18: 1037-1042.
- Putnam, A.R. & W.B. Duke. 1974. Biological suppression of weeds: evidence for allelopathy in accessions of cucumber. Science, 185: 370-371.
- Rice, E.L. 1972. Allelopathic effects of *Andropogon virginicus* and its persistence in old fields. Ecology, 56: 35-49.
- Rice, E.L. 1979. Allelopathy an update. Bot. Rev., 45: 15-109.
- Sullivan, J.D. Jr., & M. Ikawa. 1972. Variations in inhibition of growth of five *Chlorella* strains by mycotoxine and other toxic substances, J. Agr. Food Chem., 20: 921-922.
- Whittaker, R. H. & P.P. Feeny. 1971. Allelochemic; chemical interaction between species. Science, 171: 757-770.