

Estudio de potenciales alelopáticos originados por *Eucalyptus globulus* Labill., *Pinus pinaster* Ait. y *Pinus radiata* D.

A. BALLESTER, A. M. ARIAS, B. COBIÁN, E. LÓPEZ CALVO y
E. VIEITEZ (1)

UEI Fisiología Vegetal, CSIC, Apartado 122
(Santiago de Compostela)

RESUMEN

Se ha estudiado el potencial alelopático de Eucalyptus globulus Labill., Pinus pinaster Ait. y Pinus radiata D. sobre el crecimiento y la germinación de diferentes especies herbáceas.

Extractos acuosos de hojas y acículas recogidas en los meses de enero y abril inhiben fundamentalmente la germinación de las semillas de festuca, siendo la acción más importante en el mes de abril que en el de enero. El contacto directo entre hojas y acículas y las semillas a ensayar produce una inhibición muy fuerte y al igual que en el caso anterior, las semillas de festuca son las más afectadas.

Tanto el eucalipto como los pinos contienen inhibidores volátiles (presumiblemente terpenos) capaces de alterar el crecimiento de algunas de las herbáceas ensayadas.

A la hora de valorar la acción del eucalipto, del pino común y del pino insignis sobre los suelos donde viven, habrá de tenerse en cuenta el potencial que contienen como agentes productores de compuestos orgánicos inhibidores.

(1) Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Santiago de Compostela.

INTRODUCCIÓN

La alelopatía se define como el efecto perjudicial que una planta ocasiona a otra a través de compuestos químicos que son liberados al medio ambiente (9). La alelopatía produce unos efectos realmente importantes en la composición de las comunidades vegetales, en la sucesión de las especies o en la productividad vegetal. Sin embargo, existe una gran diferencia entre la alelopatía y los mecanismos competitivos propios de la ecología (7): mientras la primera añade al medio ambiente uno o varios compuestos químicos inhibidores, los mecanismos competitivos alteran factores como la luz, oxígeno, nutrientes, agua, etc.

Los compuestos alelopáticos son liberados de las plantas por cuatro caminos diferentes: descomposición de los residuos vegetales en el suelo, liberación de compuestos volátiles, lixiviación por el agua de lluvia y exudación por las raíces. Por tanto, los efectos alelopáticos están influenciados por factores ambientales como temperatura, lluvia, etc., y factores asociados al suelo como propiedades físicas, microbiología, etc.

Existe en Galicia cierta controversia sobre el efecto del eucalipto y del pino en la degradación del suelo donde viven. Sin embargo, no se ha hecho ningún trabajo que trate de comprobar los posible efectos alelopáticos de estas especies. El objeto del presente trabajo es el determinar el potencial alelopático de *Eucalyptus globulus*, *Pinus pinaster* y *Pinus radiata* y comprobar si sus productos metabólicos interfieren con la germinación y el crecimiento de especies pratenses. Como referencias bibliográficas diremos que el efecto alelopático de *Eucalyptus camaldulensis* en Estados Unidos (5) y *Eucalyptus baxteri* en Australia (6) han sido estudiados así como el de *Pinus silvestris* (4).

MATERIAL Y MÉTODOS

Hojas y acículas adultas de eucalipto y pinos, respectivamente, fueron recogidas en los meses de enero y abril e inmediatamente usadas en los ensayos biológicos. Sólo se almacenaron, en frío, las que se usaron en los ensayos de extractos. En el mes de abril se recogieron también hojas y acículas secas.

Se realizaron cuatro ensayos biológicos diferentes: extracto, contacto, volátiles y cromatograma. Todos estos ensayos han sido previamente descritos en detalle (1, 2, 3). Para el primero de ellos se extra-

Se usaron 25 gr. de hojas o acículas intactas con 100 ml. de agua durante 24 horas a temperatura ambiente y oscuridad regándose las semillas con 4 ml. del extracto así obtenido. En el ensayo de contacto, las semillas test se ponen a germinar en contacto directo con hojas y acículas de eucalipto y pinos. En el ensayo de volátiles, los compuestos liberados por hojas y acículas son los que actúan directamente sobre las semillas ensayadas. Finalmente en el ensayo de cromatograma, 2,5 ml. del extracto acuoso obtenido para el primer ensayo, se cromatografían en papel Wathman núm. 1 y se desarrolla en isopropanol-amoníaco-agua (10:1:1) dividiéndose el cromatograma resultante en 10 partes iguales que se usan como lecho de germinación de las semillas.

Se han usado las semillas siguientes: *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Dichondra repens*, *Lotus corniculatus*, *Dactylis glomerata*, *Festuca rubra*, *Festuca pratensis*, *Lolium multiflorum* cvs. Tetrone y Tewera y *Lolium perenne* cv. Teptoe. Una vez sembradas en cajas petri según los diferentes ensayos, las semillas se incubaron en cámara oscura a 24° C y 80 % de humedad durante 3, 4 ó 6 días, al cabo de los cuales se determina el porcentaje de germinación y/o el crecimiento de la radícula e hipocótilo o epicótilo. En el trabajo se presentan los resultados completos de la recogida del mes de enero y sólo como referencia los del mes de abril por no estar totalmente evaluados.

RESULTADOS

2. Efecto de *Eucalyptus globulus*

El extracto acuoso de hojas de eucalipto recogidas en el mes de enero prácticamente no altera el crecimiento y la germinación de las 10 especies herbáceas ensayadas. Solamente hay inhibición significativa en el crecimiento radicular de las dos variedades de ray-grass italiano utilizadas (Fig. 1). Tampoco parecen afectar al crecimiento los extractos de hojas verdes y secas recogidas en el mes de abril, obteniéndose resultados muy parecidos al del mes de enero. Sin embargo, el extracto de hojas secas del mes de abril afecta la germinación de *Festuca rubra*, *dactylo* y *Dichondra repens* inhibiéndolas un 53 %, 34 % y 54 %, respectivamente.

La inhibición producida por contacto en el mes de enero puede verse en la figura 2. En el caso del trébol el hipocótilo es más afectado que la raíz, mientras que el caso de la festuca la situación se invierte. En el mes de abril el potencial inhibidor de hojas verdes y secas del

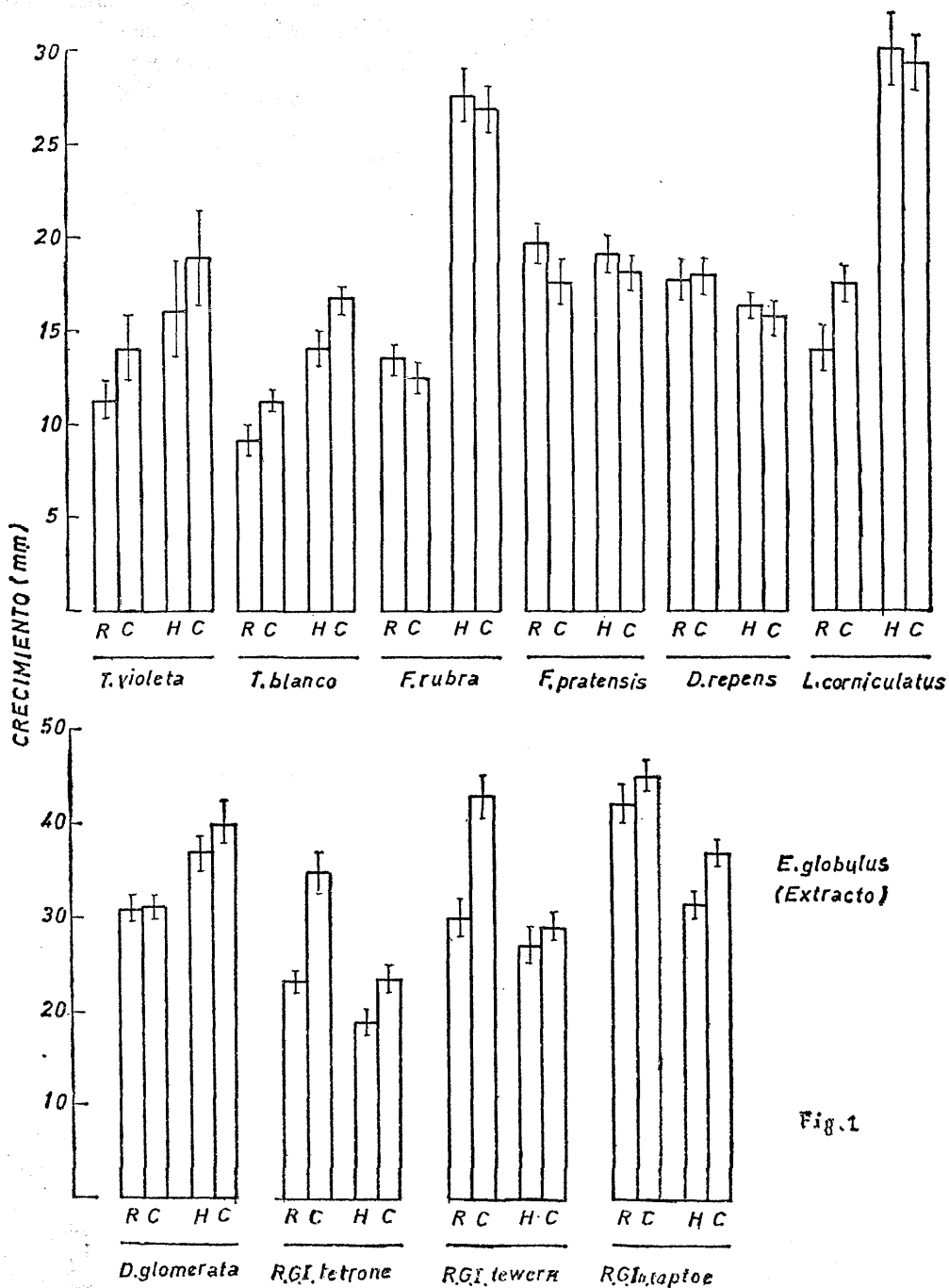


Fig.1

Figura 1

eucalipto es mucho mayor que en enero: la germinación de *Festuca rubra* es inhibida en un 94 % por hojas verdes y un 90 % por hojas secas, mientras que las semillas de dactylo lo son un 76 % y un 95 %, respectivamente. Las demás especies son poco afectadas.

El ensayo de volátiles sólo se ha realizado en el mes de abril con las semillas de dactylo, produciéndose un 83 % de inhibición de la germinación y en aquellas semillas que germinaron, la inhibición del crecimiento fue del 59 % respecto al control y menor la del hipocótilo (36 %).

E. globulus
(Contacto)

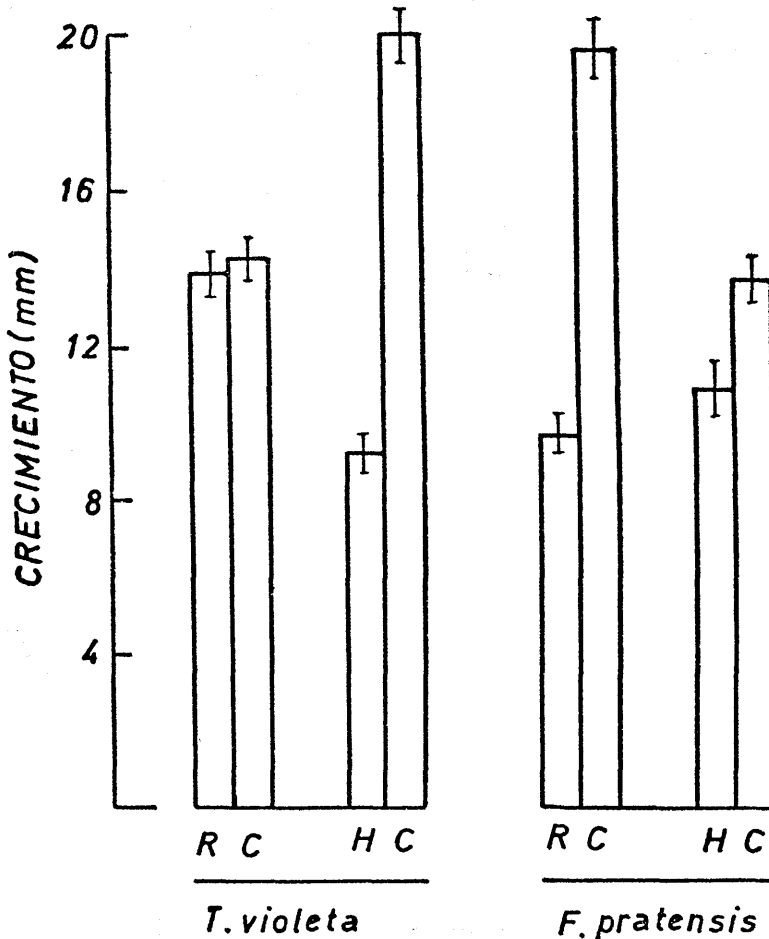


Figura 2

En el ensayo de cromatograma del extracto correspondiente al mes de enero no se observan grandes zonas de inhibición o crecimiento, confirmando la poca actividad del extracto crudo. Si acaso destacar que las semillas más afectadas son las de dactylo (Fig. 3).

2. Efecto de *Pinus pinaster*

El extracto acuoso de la muestra recogida en el mes de enero, produce inhibición del crecimiento en los dos tréboles estudiados y un 15 % de inhibición de la germinación en las semillas de *Festuca rubra* (Fig. 4). En las demás especies herbáceas, los resultados no son significativos. Con las muestras de acículas verdes y secas recogidas en el mes de abril los resultados son muy similares, siendo lo más notable destacar la inhibición del crecimiento que se produce en las semillas de *Festuca rubra* y fundamentalmente la inhibición de la germinación que, en el caso de acículas secas, alcanza un 60 % respecto al control.

La inhibición producida por contacto (Fig. 5) es mucho más elevada que la del extracto y en todas las semillas ensayadas en enero (excepto *Lolium perenne*) hay inhibición de la germinación destacando sobre todas las de *Festuca rubra* (83 %) y *Dactylis glomerata* (81 %). La misma pauta de fuerte inhibición ocurre en la recogida del mes de abril tanto en acículas verdes como secas: en el caso concreto de estas últimas inhiben un 94 % la germinación de las semillas de *Festuca rubra*.

El ensayo de volátiles de *P. pinaster* inhibe el crecimiento de la radícula de dactylo un 50 % respecto al control; sin embargo, en las semillas germinadas no se ve afectado el crecimiento del hipocótilo. Existen sin embargo un 47 % de inhibición de la germinación en las semillas de dactylo.

El ensayo de cromatograma de zonas de inhibición del crecimiento tanto en el trébol violeta como en *Dichondra repens* en la zona de Rf 0.7 - 0.8, originando al mismo tiempo inhibición de la germinación en ambas zonas (Fig. 6).

3. Efecto de *Pinus radiata*

El extracto del mes de enero de acículas verdes de *Pinus radiata* afecta fundamentalmente al crecimiento de los dos tréboles estudiados y en menor cuantía a dactylo (Fig. 7). Sin embargo, el extracto de acículas verdes del mes de abril inhibe el crecimiento de las dos variedades de ray-grass italiano y *Lotus corniculatus*, afectando tanto

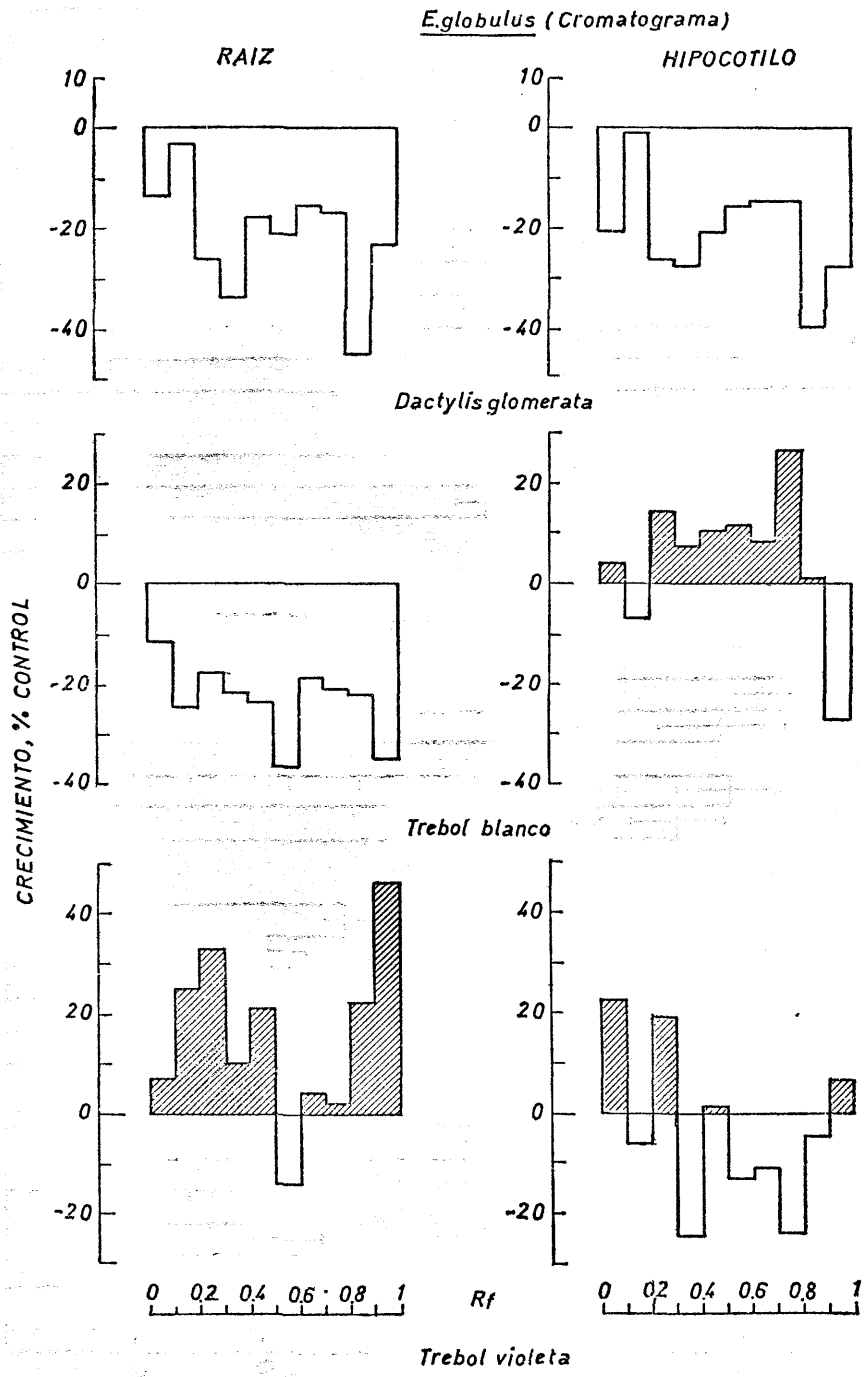


Figura 3

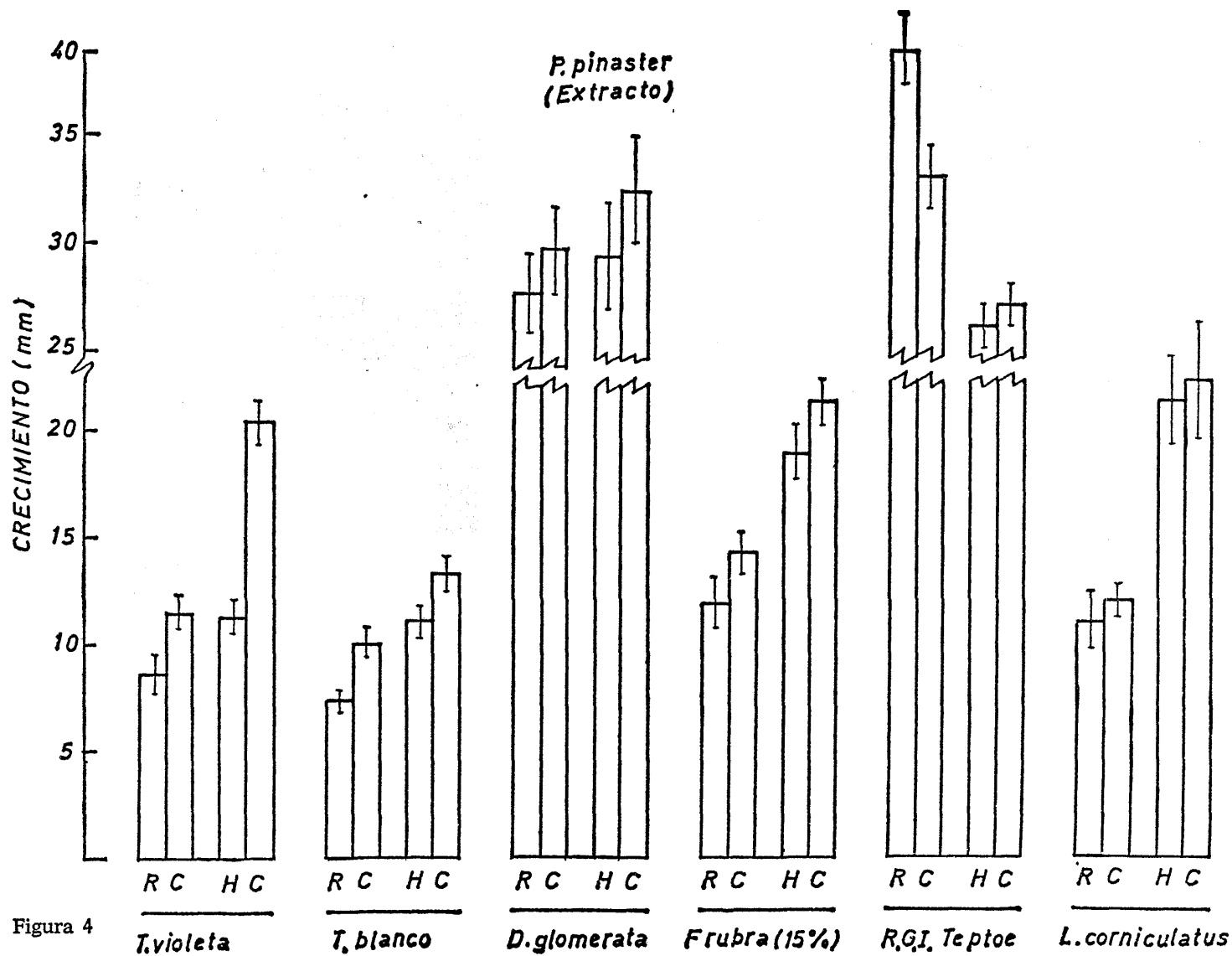


Figura 4

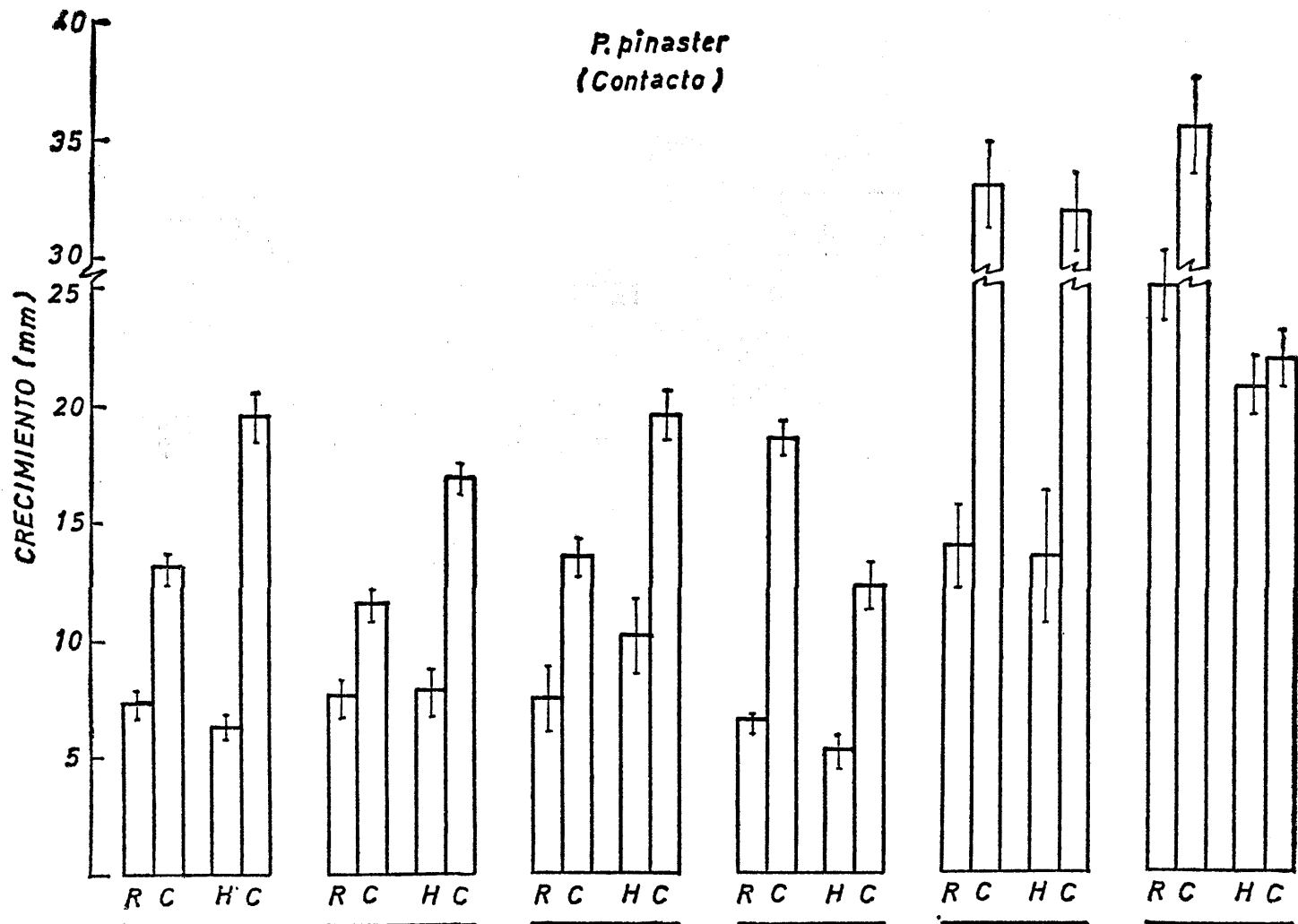
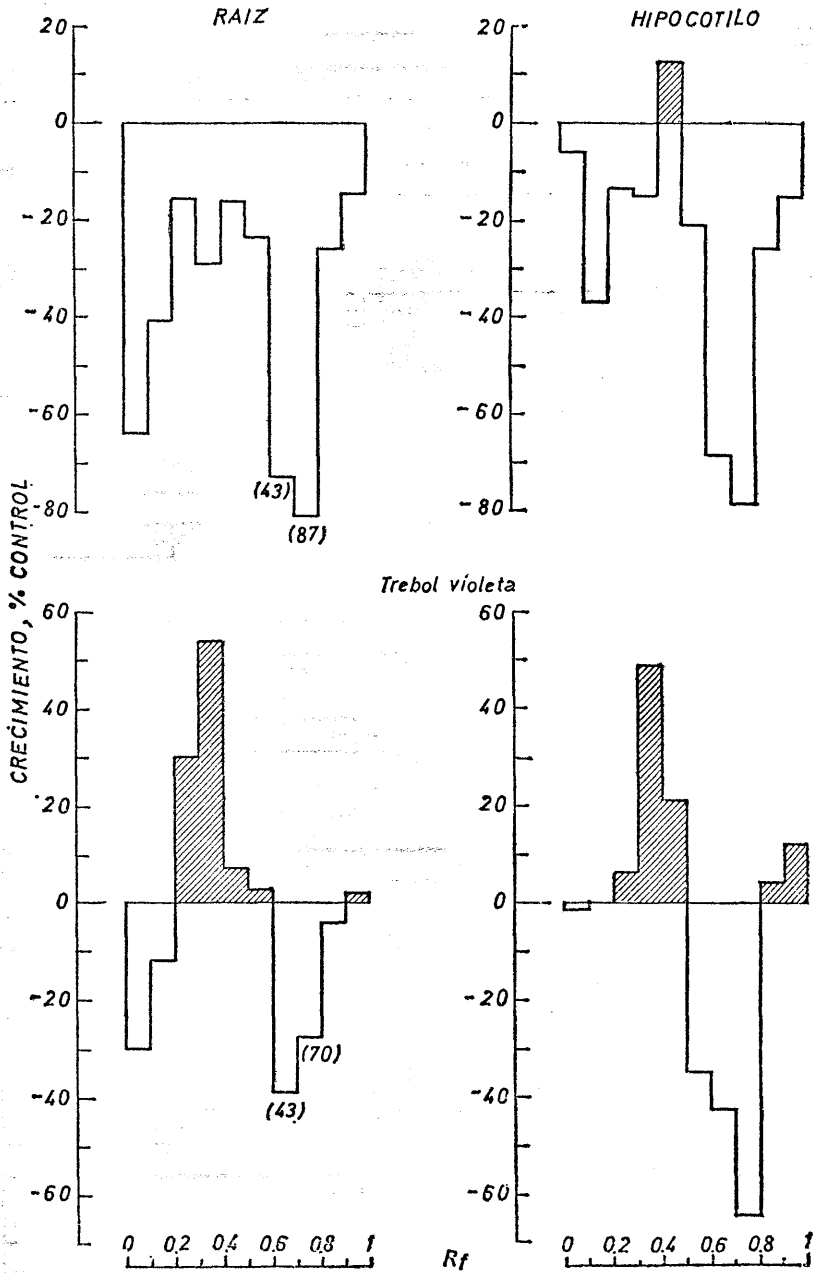


Figura 5 *T. violetz* (24%) *T. blanco* (31%) *F. rubra* (83%) *F. pratensis* (50%) *D. glomerata* (81%) *R.G. In. tepto*

P. pinnaster (Cromatograma)



Dichondra repens

Figura 6

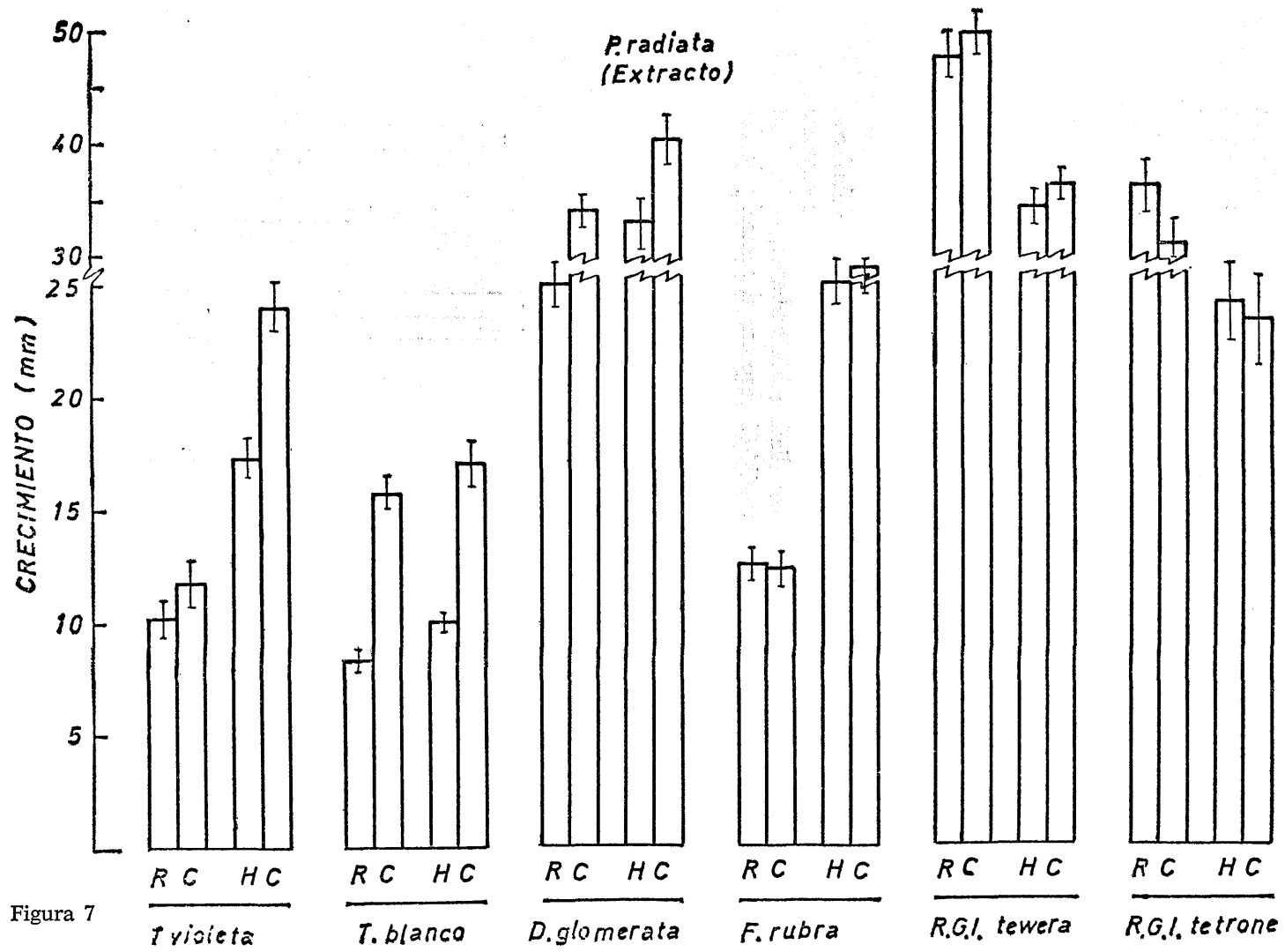


Figura 7

al hipocótilo como a la radícula. El extracto de acículas secas de esta misma época no afecta el crecimiento ni la germinación de ninguna de las especies estudiadas. Parece por tanto que los posibles inhibidores de acículas del pino insigne o bien han sido liberados al suelo o bien durante el proceso de transformación de acículas verdes a secas se han convertido en compuestos no activos.

En el ensayo de contacto del mes de enero (Fig. 8) todas las especies ensayadas han sido inhibidas en su crecimiento, destacando asimismo el 60 % de inhibición de la germinación de *Festuca pratensis*. En el mes de abril las especies más afectadas en cuanto al crecimiento son las dos festucas así como el dactylo y la inhibición la producen tanto las hojas verdes como secas. En el caso de *Festuca rubra* hay un 86 % de inhibición de la germinación con acículas verdes y un 96 % con secas.

El ensayo de volátiles, realizado solamente en el mes de abril con acículas verdes, no afecta para nada la germinación de las semillas de trébol blanco (única especie estudiada); sin embargo, la longitud de la radícula está inhibida en un 74 % respecto al control y la del hipocótilo en un 52 %.

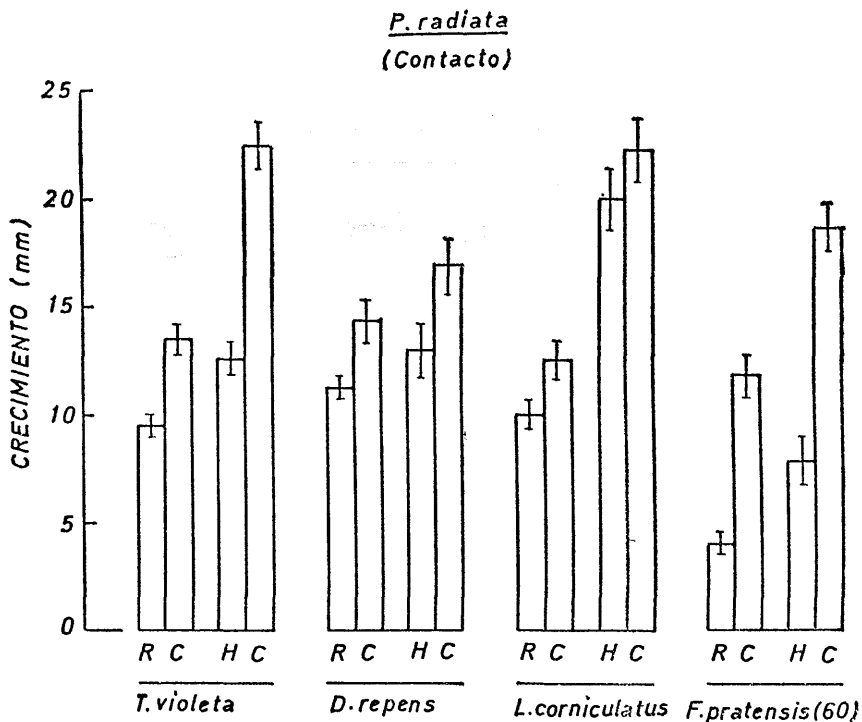


Figura 8

Los ensayos de cromatograma (Fig. 9) dan zonas de crecimiento y zonas de inhibición, algunas realmente importantes sobre todo con respecto al trébol blanco.

DISCUSIÓN

De los resultados expuestos anteriormente se deduce en principio que las tres especies estudiadas poseen un potencial inhibitor bastante elevado (a nivel de laboratorio) que debe ser confirmado en condiciones naturales de campo. Sin embargo, estos primeros resultados nos pueden dar la pauta a seguir en trabajos posteriores.

En los ensayos con extractos acuosos podemos destacar varios hechos: a) el efecto inhibitor del eucalipto es, en términos generales, más elevado que el de los pinos; b) el efecto de *Pinus pinaster*, pino común, es más importante que el de pino insigne, *Pinus radiata*; c) el extracto del mes de abril es más inhibitor que el del mes de enero; d) las semillas de festuca parecen ser las más sensibles, de todas las estudiadas, a los extractos de eucalipto y pinos.

Puesto que en dos recogidas de material hemos encontrado, en el caso concreto del eucalipto, unos efectos diferentes, creemos que sería importante realizar un estudio mensual de la actividad inhibitor para poder correlacionarla con el período de germinación de las especies herbáceas. DEL MORAL y MULLER (5) han encontrado una variación estacional en el contenido de inhibidores hidrosolubles en hojas de *Eucalyptus camaldulensis*. Por otra parte, han sido identificados algunos fenoles como responsables del efecto alelopático de extractos acuosos de *Eucalyptus baxteri* (6) y también se adscribe a fenoles la inhibición observada en el liter de *Pinus silvestris* (4). Nosotros mismos hemos comprobado la presencia de compuestos fenólicos, por reacciones cromogénicas, en los extractos acuosos de las especies estudiadas.

Sería también interesante hacer un seguimiento del contenido en inhibidores hidrosolubles desde la hoja verde madura todavía unida al árbol hasta la hoja ya caída al suelo y en proceso de descomposición. Esto parece importante puesto que la hoja verde puede contener inhibidores que no sean liberados al medio ambiente por efecto del agua (o lo sean en pequeña proporción) debido a la propia naturaleza coriácea de la hoja y que sí lo sean durante el proceso de descomposición.

La separación cromatográfica de los extractos, la valoración de su actividad biológica y las reacciones cromogénicas que presentan, per-

P. radiata (Cromatograma)

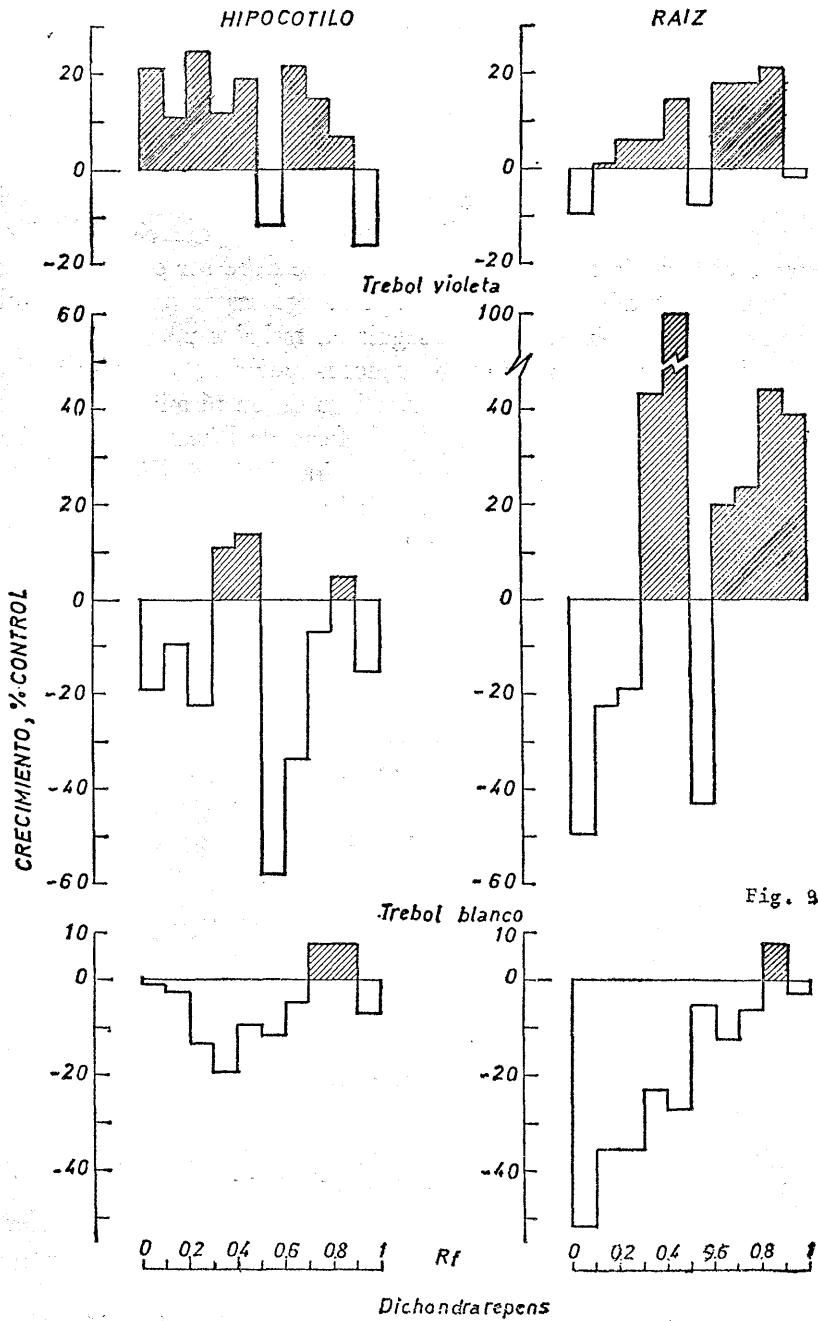


Fig. 9

Figura 9

miten decir que la mayoría de los compuestos presentes en dichos extractos son compuestos fenólicos.

La inhibición por contacto es más elevada que la del extracto y tanto en eucalipto como en pinos, las semillas de festuca son las más afectadas. Dado el tipo de ensayo que se realiza, la inhibición no se produce solamente por contacto propiamente dicho, sino que los efectos de los volátiles han de tomarse en consideración.

Los resultados más interesantes en cuanto al eucalipto y al pino común, parecen residir en la inhibición producida por los compuestos volátiles. El eucalipto es rico en compuestos terpénicos y de ellos el cineol y el β -pino son altamente tóxicos (5), siendo el primero de ellos inhibidor a una concentración tan baja como 5 ppm. Estudios realizados indican que el efecto del cineol se debe a la inhibición de la respiración mitocondrial y de la división celular (8).

Dos problemas permanecen sin resolver: el primero consiste en la identificación de estos terpenos volátiles en el eucalipto gallego, evaluando sus concentraciones; el segundo consiste en determinar si, con las condiciones climatológicas de nuestra región y con las características físicas del suelo, los terpenos van a ser adsorbidos y retenidos por los coloides del suelo y en qué época del año esta adsorción va a ser máxima. Estos condicionamientos son importantes a la hora de valorar la capacidad alelopática real de las especies estudiadas.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BALLESTER, A.; ALBO, J. M. y VIEITEZ, E. 1977. The allelopathic potential of *Erica scoparia* L. *Oecologia* (Berl.), 30, 55-61.
- (2) BALLESTER, A.; VIEITEZ, A. M. y VIEITEZ, E. 1979. The allelopathic potential of *Erica australis* L. and *E. arborea* L., *Bot. Gaz.*, 140, 436-439.
- (3) BALLESTER, A.; VIEITEZ, A. M. y VIEITEZ, E. 1982. The allelopathic potential of *Erica vagans*, *Calluna vulgaris* and *Daboecia cantabrica*. *J. Chem. Ecol.*, 8, 851-857.
- (4) BLASCHE, H. 1979. Leaching of water soluble organic substances from coniferous needle litter. *Soil. Biol. Biochem.*, 11, 581-584.
- (5) DEL MORAL, R. y MULLER, C. H. 1970. The allelopathic effects of *Eucalyptus camaldulensis*. *Amer. Midl. Natur.*, 83, 254-282.
- (6) DEL MORAL, R.; WILLIS, R. J. y ASHTON, D. H. 1978. Suppression of coastal heath vegetation by *Eucalyptus baxteri*. *Aus. J. Bot.*, 26, 203-219.
- (7) MULLER, C. H. 1969. Allelopathy as a factor in ecological process. *Vegetatio*, 18, 348-357.
- (8) MULLER, W. H.; LORBER, P. y HALEY, B. 1968. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: effect on seedling growth and respiration. *Bull. Torrey Bot. Club*, 95, 415-422.
- (9) RICE, E. L. 1974. *Allelopathy*. 353 pp. Academic Press.

THE ALLELOPATHIC POTENTIAL OF *Eucalyptus globulus* Labill.,
Pinus pinaster Ait. y *Pinus radiata* D.

SUMMARY

The allelopathic potential of *Eucalyptus globulus*, *Pinus pinaster* and *Pinus radiata* upon some grasses was studied.

Aqueous extracts collected in January and April inhibited herb germination and growth in laboratory being the most important action on the fescue seeds. Also the germination of fescue was inhibited when the seeds were put in direct contact with the leaves of *Eucalyptus* and *Pinus*. Several volatile toxins (probably terpens) were found to be present in *Eucalyptus* and *Pinus*.

Allelopathic factors interact with other factors and must be considered a part of the environmental complex.