

Actividad alelopática de exudados de raíz de alfalfa en *Arabidopsis thaliana*

Mary Cruz Campa-Perez¹
Juan Gabriel Ramírez-Pimentel²
J. Guadalupe García-Rodríguez²
Francisco Cervantes-Ortiz²
Daniel Rodríguez-Mercado²
Mariano Mendoza Elos^{2,3}

1 Instituto Tecnológico Roque. Carretera Celaya-Juventino Rosas km 8, Celaya, Guanajuato, México. AP. 508. CP. 38110. (campa.mc@hotmail.com).

2 Tecnológico Nacional de México-Campus Roque. Carretera Celaya-Juventino Rosas km 8, Celaya, Guanajuato, México. AP. 508. CP. 38110. (Garcia-2956@yahoo.com.mx; frcervantes@itroque.edu.mx; garaamirez@itroque.edu.mx; darodriguez@itroque.edu.mx).

Autor para correspondencia: mmendoza66@hotmail.com.

Resumen

La alfalfa (*Medicago sativa*) es originaria de Asia Central, esta leguminosa se siembra en todo México, contribuye a la regeneración de la fertilidad del suelo, además, su elevado contenido de proteínas y aminoácidos ayuda a la reducción de costos de producción de carne y leche. El objetivo del presente trabajo fue valorar diferentes densidades de siembra y la efectividad del extracto a base de exudados de alfalfa sobre plántulas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Se empleó semilla de alfalfa variedad San Miguelito y Belleza Verde. La siembra se estableció en cajas Petri en el Tecnológico Nacional de México Campus Roque en noviembre de 2018. Se utilizaron tres densidades de siembra 3, 6 y 9 kg ha⁻¹. Todas las variables se sometieron a un análisis de varianza y una comparación de medias, con el paquete SAS 9.0. El desarrollo radicular de la alfalfa fue afectado por la densidad de siembra, en particular al desarrollo de raíces laterales y presencia de pelos radicales, no así para la longitud de la raíz. La densidad de siembra con mayor desarrollo radicular fue con los 9 kg ha⁻¹. Los exudados de la alfalfa presentaron un efecto antagónico muy marcado sobre *Arabidopsis thaliana* al reducir su crecimiento, este efecto fue más alto para la densidad de 9 kg ha⁻¹. Una concentración de 50% o más de exudados de alfalfa disminuye el crecimiento hasta llegar a la muerte de esta *Arabidopsis thaliana*.

Palabras clave:

Arabidopsis thaliana, alelopatía, forraje.

Introducción

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una *Fabaceae* con origen en Asia central, en la actualidad esta leguminosa se siembra prácticamente en todo México. Es el principal cultivo forrajero a nivel mundial por su contribución al sistema agro-ecológico, así como sus características bromatológicas y nutritivas (Jing-Wei *et al.*, 2015). En promedio, un kilogramo de semilla de alfalfa contiene 480 000 semillas. Si todas las semillas germinaran y emergieran, con solo 5 kg ha⁻¹ de semilla se tendría una densidad de plantas deseable, con una distancia entre surcos de 50 cm (Lara y Jurado, 2014).

La producción del forraje de alfalfa en México en 2016 fue de 33 172 950 t. En cuanto al comportamiento por estado la mayor producción la presenta el estado de Chihuahua con 7 426 087 t para 2016, seguido de Hidalgo y Guanajuato con 4 573 392 y 3 489 919 t., respectivamente. En un análisis del estado de Guanajuato la producción se ha mantenido relativamente constante desde el año 2012 a la fecha y es la principal fuente de alimentación para el ganado lechero de la región (SIAP, 2017).

Por otra parte, las plantas para su nutrición dependen de la raíz, explora el suelo en búsqueda de captación de nutrientes y agua desarrollando una raíz primaria, la formación de raíces adventicias y de pelos radicales (Ortiz-Rojas., 2017). Estas raíces poseen funciones que le confieren la supervivencia y la ecología de la planta, además de ser un sitio de alta actividad fisiológica donde se da origen a la síntesis, acumulación y liberación de compuestos (flavonoides, alcaloides, ácidos fenólicos, entre otros) que interfieren en los patrones poblacionales intra e inter-especie (Gilroy y Jones, 2000). Como respuesta al estrés o fluctuaciones de tipo bióticas o abióticas, el sistema radicular secreta compuestos con una gran diversidad de propiedades físicas y químicas a la rizósfera (Faure *et al.*, 2009).

En este mismo sentido, la rizodeposición es la liberación de carbono a partir de las raíces y sus productos pueden ser categorizados como exudados, secreciones y grasas. En el caso de los exudados radiculares son de naturaleza química y poseen distintas funciones biológicas. En estos casos, la especie de planta determinará el tipo y cantidad de exudados, existiendo diferencias entre genotipo, la edad y estado fenológico de la planta (Badri y Vivanco, 2009). Por ejemplo, los exudados de la raíz tipo flavonoides influyen en algunas bacterias del suelo (Szoboszlai *et al.*, 2016).

En este sentido, los exudados tienen un efecto alelopático, así la alelopatía la definen como un fenómeno químico-ecológico en el cual una especie vegetal produce metabolitos secundarios que al ser liberados interfieren con la germinación y crecimiento de otras plantas en su entorno, pudiendo afectar el crecimiento y productividad de los cultivos, por lo tanto, la alelopatía recientemente se ha comenzado a considerar como una alternativa para el control de plagas, enfermedades y malezas (Rodríguez *et al.*, 2014).

Entre las sustancias con actividad alelopática se encuentran flavonoides, ácidos fenólicos, quinonas, terpenoides y alcaloides, que se pueden encontrar en la mayoría de los tejidos vegetales de la planta y las semillas. Los ácidos fenólicos actúan destruyendo la hormona ácido indolacético (AIA o auxina), mientras los terpenoides interfieren con las enzimas respiratorias (Flores *et al.*, 2015). En el caso de los alcaloides, estos compuestos inhiben la actividad del ADN y ARN de algunas enzimas, afectan la biosíntesis de proteínas y la permeabilidad de las membranas. Los alcaloides, son por naturaleza tóxicos y ayudan a las plantas a protegerse de sus enemigos para su propia supervivencia (Rodríguez *et al.*, 2014).

Por esta razón, los alcaloides actúan como compuestos alelopáticos, aportando a la planta un potencial herbicida natural (Goyal, 2013). El estudio de la alelopatía continúa siendo dinámico y muy complejo, se muestran los posibles métodos de acción de los compuestos aleloquímicos en un ecosistema (Oliveros-Bastidas *et al.*, 2015).

La planta de *Arabidopsis thaliana* pertenece al grupo de las Brassicaceae, es una planta que ha servido como modelo para el estudio de diversos procesos fisiológicos fundamentales, celulares

y moleculares, gracias a su reducido tamaño, pequeño genoma y fácil manipulación genética, ha mejorado mucho la comprensión de la variación del genoma intraespecífico, por ello, ha llegado a ser uno de los sistemas más importantes para el estudio de muchos aspectos de la fisiología vegetal y planta modelo para la genética (Koornneef y Meinke, 2010; Kawakatsu *et al.*, 2016).

La raíz de la línea DR5-gfp (proteína verde fluorescente), su raíz crece por la producción de nuevas células en el meristemo radicular, situado en la parte distal de la raíz, región donde se lleva a cabo la división celular. Posterior a la división celular, comienza la elongación para después diferenciarse. Las células del periciclo dan lugar a las raíces laterales, siendo el periciclo un tejido adyacente al sistema vascular que forma un nuevo meristemo. La función de las raíces laterales es explorar el suelo y aumentar la superficie de absorción de nutrientes.

La interacción de dos hormonas, las auxinas y las citoquininas regulan el crecimiento de la raíz primaria, la formación de pelos radicales y raíces laterales. Las diferentes concentraciones de auxinas y citoquininas posibilitan la regeneración de órganos siendo la base de la propagación vegetal *in vitro* (Ortiz-Rojas *et al.*, 2017). Para determinar la producción o alteraciones de auxinas en la raíz de *Arabidopsis thaliana* se utiliza la línea portadora del marcador de respuesta a auxinas DR5 aunado a la proteína verde fluorescente gfp, que es un codificador genético que es intrínsecamente fluorescente (Tatsuo *et al.*, 2015). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes densidades de siembra y la efectividad del extracto a base de los exudados de alfalfa sobre plántulas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Materiales y métodos

El proyecto se desarrolló en el Tecnológico Nacional de México *Campus* Instituto Tecnológico de Roque, en el año 2018 con ubicación carretera Celaya-Juventino Rosas km 8 (20° 57' 94.4" latitud norte, 100° 82' 50.0" longitud oeste y 1 760 msnm) y una temperatura media de 22 °C. La variedad san Miguelito es criolla, es muy persistente en el campo y produce buenos rendimientos de forraje de excelente calidad nutritiva, su ciclo de vida es perenne, el mayor de sus usos es corte, prefiere climas templados, es de dormancia 9 y la temperatura de suelo óptima para germinar es de mínimo 12 °C, tiene un periodo de vida de 3 a 4 años, su época de siembra es de otoño-invierno, la densidad de siembra es de 60 kg de semilla peletizada por hectárea, la profundidad de siembra es de máximo 2 cm.

La altura promedio por planta es de 65-70 cm, los días al primer corte son de 85-90 días, los días entre cortes son de 30-32 en primavera, verano y otoño y 35-40 en invierno, la fertilización mínima que requiere en pre siembra es de 60-120-40 y la fertilización mínima anual de 80-100 kg de fósforo ha⁻¹, su rendimiento potencial de forraje de materia seca es de 20-25 t ha⁻¹, la altura de corte es de 4-6 cm y tiene una tolerancia de sequía muy buena (Semillas Berentsen, 2019). La variedad Belleza Verde es considerada la mejor productora de forraje verde de alta calidad nutricional y larga vida productiva. Perfectamente adaptable al manejo intensivo de la producción forraje en México, de dormancia 9-10.

Se obtienen de 9-10 cortes por año, tiene una resistencia moderada a la salinidad, una recuperación muy rápida después de corte, un periodo de vida de 3-5 años, sus principales cualidades son la resistencia a enfermedades como pudrición de raíz, antracnosis y marchitez por *Fusarium*, así mismo tiene una alta resistencia a insectos tales como al pulgón del chícharo (*Acyrtosiphum pisum*), pulgón manchado (*Therioaphis maculata*) y pulgón azul (*Acyrtosiphum kondoi*) (Versa, 2019).

El trabajo se realizó en el laboratorio, se colocaron semillas de la variedad San Miguelito y Belleza Verde, en cajas Petri para germinación y crecimiento de la raíz, a tres densidades de siembra (3, 6 y 9 kg ha⁻¹), cada una con tres repeticiones, para con ello analizar la relación entre proximidad de raíz y producción de exudados. Se colocaron cincuenta semillas en tubos eppendorf para realizar la esterilización de la superficie lavándolas con etanol al 95% durante 5 min y posteriormente se enjuagaron con blanqueador comercial al 20% por 5 min más y al final con agua esterilizada cinco veces.

Una vez lavadas las semillas se colocaron sobre papel durante 10 min para eliminar el exceso de humedad. A continuación, se colocaron en las cajas Petri con cultivo MS (Murashige y Skoog) 0.1 X a pH 5,7 +/- 1 adicionado con 10% de agar bacteriológico. Las cajas Petri con semillas y cultivo MS, se mantuvieron en zona de crecimiento de cultivos vegetales (laboratorio). Se colocaron las cajas con un ángulo de inclinación de 65° en cámara de incubación a 22 °C, con fotoperiodo de dieciséis horas luz y ocho horas de oscuridad.

Durante el desarrollo de la plántula, se midió el crecimiento de las raíces durante doce días. En cada plántula se midió la longitud de la raíz principal, sus raíces laterales y pelos radicales, con esto se analizó la diferencia de crecimiento de las raíces a diferentes proximidades.

Antagonismo de la alfalfa sobre *Arabidopsis*

Se sembró la semilla de *Arabidopsis* línea DR5-gfp a una distancia de 1 cm entre plántula y semilla de alfalfa variedad San Miguelito y Belleza Verde cada una con tres repeticiones, a una densidad de siembra de 3, 6 y 9 kg ha⁻¹. Se monitoreo el crecimiento de las plántulas de *Arabidopsis* y cuando alcanzaron una longitud promedio de 1.3 cm se realizó un trasplante a las cajas Petri que contenían la plántula de alfalfa, esto fue aproximadamente el día ocho después de la siembra de alfalfa y catorce días después de la siembra de *Arabidopsis*. Durante los doce días posteriores se monitoreo el crecimiento de ambas plántulas. Con el uso de un microscopio invertido con fluorescencia se analizó la producción de auxinas en las raíces de *Arabidopsis* para verificar si se detuvo o no el crecimiento de dichas plántulas.

De las cajas Petri se extrajeron las plántulas tanto de alfalfa como de *Arabidopsis*. El medio utilizado como sustrato para las plántulas se mezcló en tubos eppendorf a proporción 10, 25 y 50% de medio y como solvente agua y etanol al 95%. Obteniendo con esto un total de 38 tratamientos. Los tubos con las diferentes mezclas se agitaron a temperatura ambiente durante 30 min, posteriormente se centrifugaron a 3 000 rpm durante 10 min.

Se realizó la siembra de semillas de *Arabidopsis* de la línea utilizada en previos experimentos (DR5-gfp) en medio MS con un pH de 5.7 dejando que la plántula alcanzara una longitud de 1.3 cm para adicionarle 5 µl de a cada muestra, se utilizaron dos testigos, uno agua y el otro etanol. Se monitoreo el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento de la raíz durante doce días. Para el análisis del desarrollo radicular, el antagonismo de las plántulas de alfalfa sobre *Arabidopsis thaliana* L., y los efectos que tienen los extractos de alfalfa, se usó un diseño completamente al azar con arreglo factorial como factor A, dos variedades, factor B, tres densidades y factor C, dos concentraciones, con tres repeticiones, y una prueba de comparación de medias Tukey a través del paquete estadístico SAS versión 9.0.

Resultados

La densidad de siembra no afectó significativamente la longitud de la radícula, se encontró un efecto estadístico significativo al 5% para el desarrollo de raíces laterales y un efecto estadístico altamente significativo al 1% en el desarrollo de pelos radicales de la alfalfa. Estas diferencias se atribuyen a la competencia que se produce por la adquisición de nutrientes entre las plántulas vecinas. En el caso de la fuente de variación variedades de alfalfa, estas si se afectaron estadísticamente al 1% para la longitud radicular, aunque el desarrollo de pelos radicales y raíces laterales resultó ser no significativo, lo que indica que ambos genotipos se comportaron de manera similar en estas dos últimas variables. Para la interacción entre variedades y densidades no se detectaron diferencias estadísticas para estas variables de estudio. Los coeficientes de variación oscilan de 2.7 a 17.8% y se consideraron aceptables.

Como se indicó anteriormente, la longitud radicular no resultó diferente estadísticamente, por lo tanto, todas las medias se ubicaron en el mismo grupo (a) lo que indica que presentaron un mismo patrón de comportamiento (Cuadro 1). Sin embargo, la longitud varió de 3.7 cm a 4.1 cm y con una diferencia de 9.75% más de biomasa a favor de la densidad de siembra más baja, resulta importante ya que a mayor volumen se espera mejor y mayor obtención de nutrientes

por parte de la raíz; no obstante, los pelos radicales fueron superiores con la densidad de 9 kg ha⁻¹, estos pueden absorber mayor cantidad de agua y moléculas que la planta necesita para su desarrollo y supervivencia y de la misma manera mayor cantidad de exudados que protegen a la planta.

Cuadro 1. Comparación de medias para longitud radicular, pelos radicales y raíces laterales en densidades de siembra en alfalfa San Miguelito y Belleza Verde en 2018.

Densidad de siembra (kg ha ⁻¹)	Longitud radicular (cm)	Número de pelos radicales	Número de raíces laterales
9	4 a	9 a	13 a
6	3.7 a	5 b	7 ab
3	4.1 a	5 b	6 b
Tukey (5%)	0.0111	0.0365	0.061

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey= 0.05).

En el caso del número de pelos radicales y raíces laterales, donde se formaron dos grupos (a y b), indican que a mayor densidad de siembra se genera mayor desarrollo tanto de pelos radicales como de raíces laterales. Al utilizar 9 kg ha⁻¹, el desarrollo de raíces laterales se incrementó casi al doble que cuando se trabajó con 3 y 6 kg ha⁻¹, lo mismo para el número de pelos radicales. Esto se atribuye a la competencia por obtener nutrientes en un menor espacio por las plantas vecinas. Con los datos obtenidos se puede analizar que a medida que aumenta el número de raíces laterales, también el número de pelos radicales es más alto, a pesar de que la longitud de raíz fue más alta con la densidad de 9 kg ha⁻¹, teniendo por lo tanto menos área.

Para la fuente de variación 'variedades' el comportamiento de la longitud radicular se vio influenciada por el genotipo utilizado, con un resultado superior para la variedad Belleza Verde (Cuadro 2). En el caso del desarrollo de pelos radicales y raíces laterales no tuvieron diferencia estadística significativa con α al 0.05. Por lo tanto, se concluye que el desarrollo radicular se comportó de manera uniforme entre los genotipos utilizados, siendo superior la Belleza Verde en longitud radicular.

Cuadro 2. Comparación de medias para la longitud radicular, pelos radicales y raíces laterales en dos variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) en 2018.

Variedad	Longitud radicular (cm)	Número de pelos radicales	Número de raíces laterales
San Miguelito	3.8 b	6 a	8 a
Belleza Verde	4 a	7 a	9 a
Tukey (5%)	0.0074	0.0243	0.0407

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey= 0.05).

La longitud de la raíz de alfalfa no se vio afectada cuando las plántulas de *A. thaliana* L., fueron trasplantadas, comparadas con su testigo, incluso, las plántulas con mayor densidad resultaron ligeramente superiores en longitud (Cuadro 3). Sin embargo, en *A. thaliana* L. el antagonismo que produce la alfalfa sobre ellas detuvo totalmente su crecimiento a los días cinco después del trasplante, con una longitud promedio de 1.5 cm en contraste con su testigo (4.9 cm) y mostró síntomas de clorosis ocho días después del trasplante. El crecimiento y desarrollo de la raíz de la plántula de la *Arabidopsis* fue afectada en mayor grado por la densidad de alfalfa de 9 kg ha⁻¹ y la densidad de 3 kg ha⁻¹ mostró 12.65% de longitud de raíz superior a la densidad más alta.

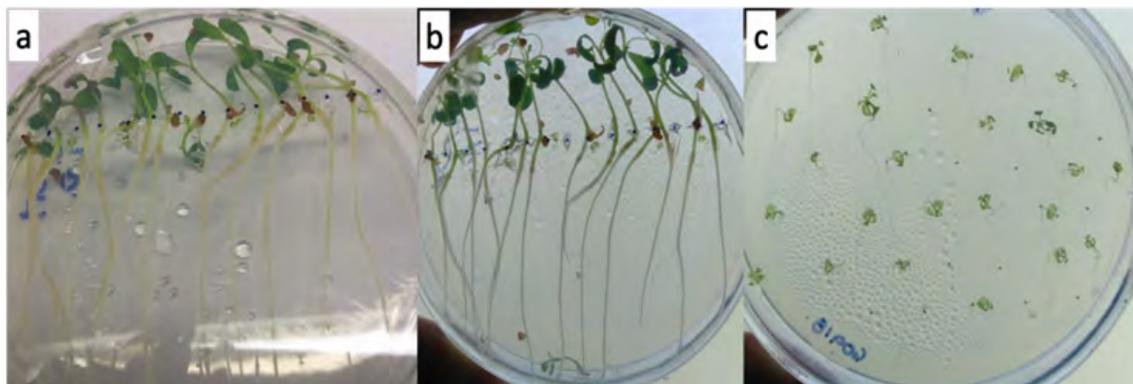
Cuadro 3. Comparación de medias para longitud de raíz de alfalfa (*Medicago sativa*) y *Arabidopsis* a través de las densidades de siembra en 2018.

Densidad de siembra (kg ha ⁻¹)	Longitud de raíz alfalfa (cm)	Longitud de raíz <i>Arabidopsis</i> (cm)
9	7.03 a	1.38 b
6*	6.3 ab	1.45 ab
3	5.98 b	1.58 a
Testigo	6.8 a	4.9 a
Tukey (5%)	0.0086	0.0056

*= testigo comercial para producción de semilla. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey= 0.05).

En la Figura 1, se observó el comportamiento de los tratamientos: a) justo después del trasplante, tanto la alfalfa (las dos variedades) como la *Arabidopsis* aún no se ven afectadas por la interacción en la misma caja Petri; b) plántulas de alfalfa y *Arabidopsis* a los doce días después de realizar trasplante, se constató claramente que las plántulas de alfalfa no se afectaron con la presencia de *Arabidopsis*, mientras que estas últimas se afectaron severamente al compararlas con el testigo; y c) plántulas testigo de *Arabidopsis* de la misma fecha de siembra.

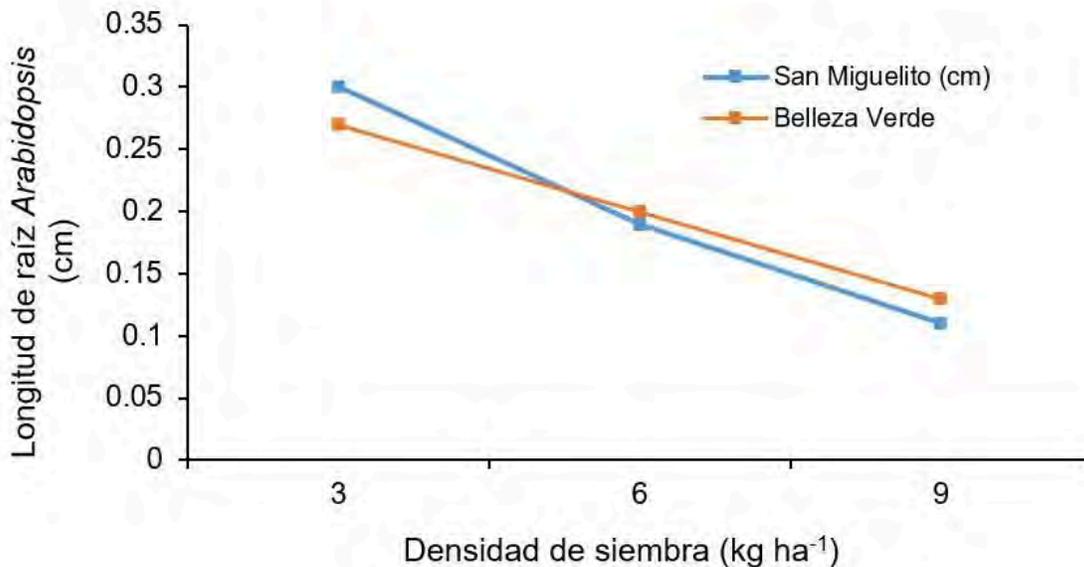
Figura 1. Longitud de raíz de las dos variedades de alfalfa (*Medicago sativa*) con trasplante de *Arabidopsis*: a) día uno después del trasplante; b) día 12 después del trasplante; c) testigo *Arabidopsis* mismo día de inciso b en 2018.



El efecto de la densidad de siembra utilizada para la alfalfa variedad San Miguelito en el medio con que se elaboraron los extractos, fue más efectiva cuando se manejaron 9 kg ha⁻¹, debido a que el promedio de la longitud de raíz de las plántulas de *Arabidopsis* fue solo de 0.11 cm en contraste con la densidad de 3 kg ha⁻¹ donde las plántulas crecieron hasta 0.3 cm, lo que significa 63.3% menos de la longitud de raíz con la densidad mayor, atribuible a la competencia de las plantas entre sí, tanto alfalfa-alfalfa y alfalfa-*Arabidopsis*.

Para el genotipo Belleza Verde la respuesta correspondieron a las mismas densidades de siembra, siendo 0.13 y 0.27 cm respectivamente la longitud de raíz promedio de las plántulas de *A. thaliana* L., en este caso, con 51.8% de diferencia en la longitud de raíz entre la mayor y menor densidad de siembra. La variedad San Miguelito fue aproximadamente 15% más efectiva para la inhibición del crecimiento de la raíz de *Arabidopsis* en comparación con la Belleza Verde (Figura 2).

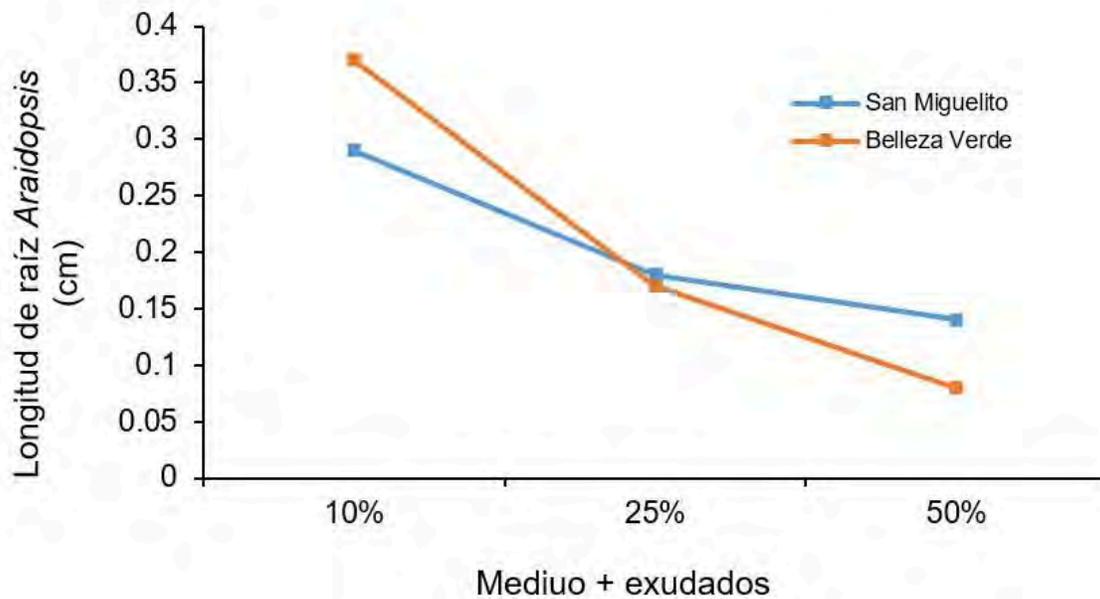
Figura 2. Longitud de raíz de *Arabidopsis thaliana* L. a 12 días después de aplicar los extractos del medio + exudados de alfalfa (*Medicago sativa*) con tres densidades de siembra en 2018.



La concentración de medio más efectiva para afectar el desarrollo normal de plántulas de *Arabidopsis* en ambos casos fue de medio + exudado 50% con una longitud de raíz promedio de 0.14 y 0.08 cm en San Miguelito y Belleza Verde, respectivamente. Para el caso de la variedad Belleza Verde fue 75% más efectiva la concentración de 50% al compararla con la de 10%. El extracto que contenía la variedad Belleza Verde fue más efectivo en la reducción del desarrollo y crecimiento promedio de la raíz de *Arabidopsis*. Cuando tuvo una concentración de medio + exudados al 50%, la variedad Belleza Verde superó en efectividad 43% a la variedad San Miguelito, al manejar concentración al 25%, nuevamente la Belleza Verde fue más eficiente en 6%. Sin embargo, con una concentración de 10%, la variedad San Miguelito redujo la velocidad de crecimiento en 21% más que la variedad Belleza Verde (Figura 3).

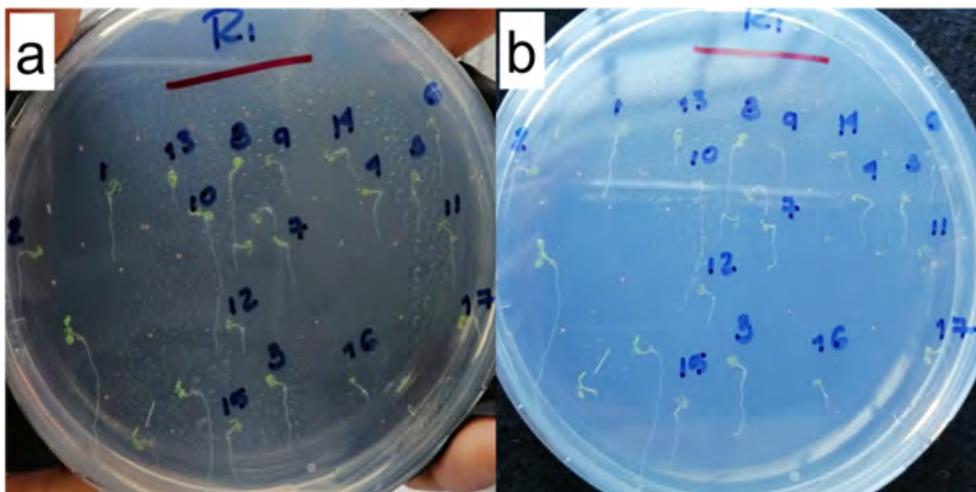


Figura 3. Longitud de raíz de *Arabidopsis thaliana* L. a 12 días después de aplicar tres concentraciones de extractos (medio + exudados de alfalfa (*Medicago sativa*)) en 2018.



En la Figura 4, se observan las plántulas de *Arabidopsis* después de aplicarles los tratamientos a base de extractos de alfalfa, en la fotografía 4a, se observan un día después de la aplicación plántulas con un color verde normal; es decir, plántulas con hojas y radícula normales y en la Figura 4b, ocho días después de aplicar el extracto de alfalfa, tanto las plántulas como las raicillas empezaron a presentar clorosis hasta llegar a la muerte.

Figura 4. Crecimiento de plántulas de *Arabidopsis* con extractos de medio MS previamente sembrados con alfalfa (*Medicago sativa*) en interacción con *Arabidopsis* a) día uno después de la aplicación, b) día ocho, posterior a la aplicación en 2018.



Discusión

La demanda de nutrientes tiene fuerte relación con la densidad de siembra, debido a la competencia por espacio, influyen en la formación de biomasa aérea y también al desarrollo del sistema radicular. Al respecto, Castaldo *et al.* (2018) en un trabajo sobre dos densidades de siembra (8 y 16 kg ha⁻¹) y dos variedades de alfalfa (WL 611 y WL 903), reportaron resultados similares a los del presente trabajo, donde las densidades de siembra que se utilizaron no mostraron diferencias estadísticas para un mayor rendimiento y peso seco de alfalfa, pero si fueron estadísticamente significativas al 5% entre las variedades empleadas.

Las diferencias entre variedades se atribuyen al origen genético y a las densidades de siembra, estas impactan en mayor grado en la longitud radicular, número de pelos radicales y número de raíces laterales.

En este sentido, Ortiz-Rojas *et al.* (2017) concluyen de su trabajo de desarrollo radicular de *Arabidopsis thaliana* con extracto foliar de *Moringa oleifera* que existieron diferencias en el desarrollo radicular atribuyéndose directamente a la competencia con las raíces vecinas por captación de nutrientes. Cuando se tienen diferentes condiciones para el desarrollo de una planta, se espera que las plantas en cada uno de los tratamientos expresen su crecimiento de acuerdo con sus necesidades. El incremento del sistema radicular está determinado por el número y posición de las raíces laterales (Palleros, 2015) por esta afirmación, se puede observar que cuando se tiene mayor densidad de siembra también se tiene mayor desarrollo de pelos radicales al tener un mayor número de crecimiento de raíces laterales.

Se observó efecto antagónico en el crecimiento radicular de las plántulas de *Arabidopsis thaliana* L. con la alfalfa, pero fue en mayor grado hasta alcanzar clorosis con las densidades de siembra más altas. Algunas especies han demostrado tener efectos de autotoxicidad y heterotoxicidad (Chocarro y Lloveras, 2014). La toxicidad se da cuando algunas plantas liberan sustancias químicas que alteran el establecimiento de plantas vecinas. Suelen afectar la capacidad de germinación o establecimiento de nuevas plántulas, así como la morfología, resultados similares reportan en un trabajo de potencial alelopático de la alfalfa sobre diferentes leguminosas forrajeras, encontraron que la raíz de las plantas vecinas a la alfalfa es la que se ve más afectada en su desarrollo, lo cual corrobora los resultados del presente trabajo (Chocarro y Lloveras, 2014). Algunos autores, López-Bucio *et al.* (2005) encontraron en su trabajo con *Bacillus megaterium* que modifica la arquitectura de la raíz de *Arabidopsis* independientemente de auxinas y etileno.

Algunos estudios referenciales, como el de Martínez-Mera *et al.* (2016) expresan en su trabajo el efecto que tienen los extractos de tres diferentes leguminosas (crotalaria, canavalia y gandul), localizaron una interacción entre cultivos por extracto acuoso en la germinación. Se generó inhibición en el crecimiento del coleóptilo, y la radícula del maíz, en el coleóptilo e hipocotilo y radícula en sorgo y lechuga. Resultados que coinciden con el presente trabajo al verse inhibido el crecimiento de la raíz y en general la parte aérea de las plántulas de *Arabidopsis* hasta llegar a su muerte, ocho días después de la siembra.

Conclusiones

La alfalfa presenta alto antagonismo frente a las plántulas de *Arabidopsis thaliana* L. Con los exudados de todas densidades de siembra se observó antagonismo al detener el crecimiento de la plántula de *Arabidopsis*; no obstante, la de mayor efecto fue con la densidad de 9 kg ha⁻¹ la cual causó la muerte en las dos variedades, lo que indica que el efecto antagónico no depende de la variedad sino de la densidad de siembra.

Bibliografía

- 1 Badri, D. V. and Vivanco, J. M. 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant. Cell Environ.* 32(6):666-681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926>.
- 2 Castaldo, A. O.; Pariani, A.; Ferrán, A. M.; Giorgis, A.; LamelaArteaga, G. P.; Denda, S S.; Antonucci, P. y Hecker, F. L. 2018. Efecto de dos niveles de densidad de siembra y fertilización sobre la producción de dos cultivares de alfalfa bajo corte. Análisis productivo y económico del primer año de producción. *Ciencias Veterinarias.* 18(2):8-26. <https://doi.org/10.15359/rcv.38-1.3>.
- 3 Chocarro, C. y Lloveras, J. 2014. Potencial alelopático de la alfalfa (*Medicago sativa* L.) sobre diferentes leguminosas forrajeras. *Pastos.* 44(1):153-160. <https://doi.org/10.13140/2.1.3250.3680>.
- 4 Faure, D.; Vereecke, D. and Leveau, J. H. J. 2009. Molecular communication in the rhizosphere. *Plant Soil.* 321(1):279-303. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9839-2>.
- 5 Flores, C. M. A.; Sanchez, C. E. y Perez, L. R. 2015. Potencial alelopático de extractos foliares de *Astragalus mollissimus* Torr. sobre la germinación *in vitro* de semillas de maleza. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 6(5):1093-1103.
- 6 Gilroy, S. and Jones, D. L. 2000. Through form to function: root hair development and nutrient uptake. *Trends Plant Science.* 5(2):56-60. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01551-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01551-4).
- 7 Goyal, S. 2013. Ecological role of alkaloids. *In: Ramawat, K. and Mérillon, J. M. Ed. Natural products.* Springer, Berlin, Heidelberg, DEU. 149-171 pp.
- 8 Jing-Wei, F.; Yan-Lei, D.; Neil, C.; Bing-Ru, W.; Yan, F.; Yue, X. and Feng-Min, L. 2015. Changes in root morphology and physiology to limited phosphorus and moisture in a locally-selected cultivar and an introduced cultivar of *Medicago sativa* L. growing in alkaline soil. *Plant Soil.* 392(1/2):215-226. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2454-0>.
- 9 Kawakatsu, T.; Shao-Shan, C. H.; Jupe, F.; Sasaki, E.; Schmitz, R. J.; Urich, M. A. and Ecker, J. R. C. 2016. Genomes reveal the global pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell.* 166(2):492-505. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.063>.
- 10 Koornneef, M. and Meinke, D. 2010. The development of *Arabidopsis* as a model plant. *Plant J.* 61(6):909-921. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.04086.x>.
- 11 Lara, C. R. y Jurado, P. G. 2014. Paquete tecnológico para la producción de alfalfa en Chihuahua. Folleto técnico núm. 53 p. <https://www.producechihuahua.org/paqs/PT-0010Alfalfa.pdf>.
- 12 López-Bucio, J.; Cruz-Ramirez, A.; Perez-Torres, A.; Ramirez-Pimentel, J. G.; Sanchez-Calderon, L. and Herrera-Estrella, L. 2005. Root architecture. *In: Turnbull, C. G. N. Ed. Plant architecture and its manipulation.* Blackwell, Oxford, GBR. 182-205 pp.
- 13 Martínez-Mera, E. A.; Valencia, E. y Cuevas, H. E. 2016. Efectos alelopáticos de extractos acuosos de las leguminosas crotalaria [*Crotalaria júncea* (L.) Tropic Sun'], canavalia (*Canavalia ensiformis* L.) y gandul (*Cajanus cajan* L.) en el desarrollo de los cultivos. *Journal Agriculture of the University de Puerto Rico.* 100(1):71-82.
- 14 Oliveros-Bastidas, A. J.; Macías, F. A.; Carrera, F. C.; Marín, D. y Molinillo, J. M. G. 2015. Exudados de la raíz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. *Química Nova.* 32(1):198-213. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000100035>.
- 15 Ortiz-Rojas, L. Y.; Suarez-Botello, J. C. y Chaves-Bedoya, G. 2017. Respuesta en el desarrollo radicular de *Arabidopsis thaliana* al extracto foliar de *Moringa oleifera*. *Rev. Colomb. Cienc. Hort.* 11(1):193-199. <https://doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.6131>.
- 16 Palleros, B. M. 2015. Identificación de nuevos genes implicados en la iniciación y desarrollo de las raíces laterales en *Arabidopsis thaliana*. Universidad de Extremadura, Badajoz, España. 270 p. <http://hdl.handle.net/10662/3048>.

- 17 Rodríguez, E. M.; Chico, R. J. y Chavez, W. O. 2014. Efecto alelopático del extracto acuoso de hojas de *Helianthus annuus* sobre la germinación y crecimiento de plántulas de *Setaria unguolata* y *Chenopodium murale*. *Rebiol.* 34(1):5-12.
- 18 Semillas Berentsen, 2019. Variedad de alfalfa San Miguelito. Ficha técnica. <https://semillasberentsen.com.mx>.
- 19 SIAP. 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. SIAP, México. <http://infosiap.siap.gob.mx/agricola-siap-gb/identidad/index.jsp>.
- 20 Szoboszlay, M.; White-Monsant, A. and Moe, L. 2016. The effect of root exudate 7,4'-dihydroxyflavone and naringenin on soil bacterial community structure. *PLoS ONE.* 11(1):e0146555. 1-16 pp. <https://doi:10.1371/journal.pone.0146555>.
- 21 Tatsuo, K.; Shih, Ch. L.; Antonius, J. M.; Marjori, M. and Fu, J. L. 2015. GFP loss-of-function mutations in *Arabidopsis thaliana*. *G3 Bethesda.* 5(9):1849-1855. <https://doi:10.1534/g3.115.019604>.
- 22 VERSA. 2019. Belleza Verde, alfalfa seed. <https://grupoversa.com/>.

Actividad alelopática de exudados de raíz de alfalfa en *Arabidopsis thaliana*

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 May 2023
Date accepted: 01 July 2023
Publication date: 26 July 2023
Publication date: July 2023
Volume: 14
Issue: 5
Pages: 66-77
DOI: 10.29312/remexca.v14i5.3090

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

Arabidopsis thaliana

alelopatía

forraje

Counts

Figures: 4

Tables: 6

Equations: 0

References: 22

Pages: 12