

Efectos alelopáticos de plantas de *Cynodon dactylon* L. en praderas naturales invadidas

DANIELLA BRESCIANO^{1,✉}; NICOLÁS GLISON² & FELIPE LEZAMA¹

¹Departamento de Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

²Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

RESUMEN. Con el objetivo de explorar las causas del éxito invasor de *Cynodon dactylon* en pastizales intersembrados con leguminosas y fertilizados con fósforo, se evaluó el efecto alelopático de los extractos acuosos de plantas de esta especie invasora —provenientes de un pastizal natural y de un pastizal con intersemebra con leguminosas y fertilización con fósforo— sobre las gramíneas nativas *Paspalum notatum* y *Paspalum dilatatum*. Debido a lo observado en pastizales fertilizados, donde la cobertura de *C. dactylon* aumenta, la de *P. notatum* decrece y *P. dilatatum* no es afectado, se esperaba que los aleloquímicos de la invasora provenientes de los pastizales intersembrados y fertilizados afectaran negativamente a *P. notatum*. Se evaluó el efecto de extractos acuosos de hojas frescas de *C. dactylon* de un pastizal natural y de un pastizal intersembrado y fertilizado con fósforo sobre la germinación, el crecimiento y el desarrollo de las dos gramíneas nativas. Contrariamente a lo esperado, no se registró un efecto inhibitorio de los tratamientos sobre la germinación y las plantas adultas en otoño, sino un aumento en la germinación de ambas especies regadas con extractos provenientes de pastizal intersembrado y fertilizado. En cambio, en primavera, la respuesta fue neutra. Los resultados no indican que los extractos acuosos de hojas frescas tengan un efecto alelopático que explique el éxito invasor de *C. dactylon* y el decrecimiento de *P. notatum* en pastizales fertilizados. Se deben considerar otras aproximaciones para su estudio.

[Palabras clave: fertilización, intensificación, *Paspalum notatum*, *Paspalum dilatatum*]

ABSTRACT. Allelopathic effects of *Cynodon dactylon* L. plants in invaded natural grasslands. We evaluated the allelopathic effect of the invasive species *Cynodon dactylon* from a natural grassland and overseeding grassland intersowing with legumes and fertilization with phosphorus, on two native grasses, *Paspalum notatum* and *Paspalum dilatatum*. Due to what was observed in fertilized grasslands, where the cover of *C. dactylon* increases, *P. notatum* decreases and *P. dilatatum* is not affected, it was expected that the allelochemicals from the intersowing and fertilized grasslands would have a negative effect on *P. notatum*. The effect of aqueous extracts of *C. dactylon* on the germination, growth and development of the two grasses studied. Contrary to our expectations, we could not detect inhibitory effects of the treatments on germination and adult plants in autumn, but an increment of germination of both species irrigated with extracts from intersowing and fertilized grasslands. In contrast, in spring, the responses were neutral. The results obtained do not indicate that aqueous extracts from fresh leaves have an allelopathic effect that explains the invasive success of *C. dactylon* and the decrease of *P. notatum* in fertilized grasslands, although other approaches should be considered for its study.

[Keywords: fertilization, intensification, *Paspalum notatum*, *Paspalum dilatatum*]

INTRODUCCIÓN

Las invasiones biológicas constituyen actualmente una de las principales causas de pérdida de biodiversidad a nivel mundial (Mack et al. 2000). Los pastizales templados son uno de los ecosistemas naturales particularmente susceptibles a las invasiones de plantas exóticas al estar sometidos a presiones de cambio, producto del contexto de intensificación productiva, que supone, entre otros subsidios energéticos, el agregado de fertilizantes (Oenema et al. 2014). Este manejo genera cambios en la riqueza y la composición de especies, y promueve la presencia de especies invasoras (Tognetti and Chaneton 2014; Jaurena et al. 2016). Entre los

mecanismos propuestos para que las plantas exóticas logren el éxito en su establecimiento y propagación se encuentra la alelopatía. Este mecanismo consiste en los efectos inhibidores o estimulantes de una planta (donadora) sobre otra (receptora) al liberar componentes químicos al ambiente; como tal, representa un tipo de interacción entre especies de plantas en las comunidades vegetales (Makoi et al. 2012; Wise et al. 2020; Hierro and Callaway 2021). Concretamente, refiere a la liberación de sustancias aleloquímicas por ejemplo compuestos fenólicos, terpenoides o alcaloides (Makoi et al. 2012) al lixiviarse partes de plantas vivas, exudados de raíces y al descomponerse residuos (Callaway and Ridenour 2004). La hipótesis de armas novedosas propone a la

alelopatía como un mecanismo que favorece la invasión de las plantas exóticas (Callaway and Aschehoug 2000; Callaway and Ridenour 2004; Inderjit et al. 2008; Zhang et al. 2020; Kalisz et al. 2021), y genera las condiciones para que éstas constituyan un monocultivo en los sitios donde son introducidas (Inderjit et al. 2008). Se ha comprobado que los efectos inhibidores de los aleloquímicos de las especies donadoras pueden afectar la germinación y el crecimiento de plántulas (Alam et al. 2001; Preston et al. 2002; Inderjit and Callaway 2003; Rezaie and Yarnia 2009; Zhang et al. 2020). En este sentido, existen múltiples factores que pueden incidir en la concentración de estas sustancias y en la intensidad del efecto sobre las plantas receptoras (e.g., la fertilización, la variación estacional y el estado fenológico de las plantas donadoras y de las plantas receptoras) (Alam et al. 2001; Gniazdowska and Bogate 2005; Cecchin et al. 2017; Scheffer-Basso et al. 2019). Por ejemplo, se registró que la fertilización nitrogenada aumenta el efecto alelopático de la gramínea exótica invasora *Eragrostis plana* Nees, sobre los tejidos de *Lactuca sativa* L. en estado vegetativo (Cecchin et al. 2017).

Según Kalisz et al. (2021), de las 524 especies de plantas invasoras contenidas en una base de datos, el 51.4% produce efectos alelopáticos con potenciales efectos negativos sobre las especies nativas. Por otra parte, el origen de los aleloquímicos puede variar el grado de afectación sobre las especies receptoras. Zhang et al. (2020) indican que los efectos alelopáticos negativos fueron más fuertes cuando provenían de restos vegetales muertos. En la misma línea, Guido et al. (2020) identificaron efectos inhibitorios de extractos de hojas secas de *Cynodon dactylon* (L.) Pers. sobre la germinación de las semillas de la gramínea nativa *Eragrostis bahiensis* Ness. Sin embargo, los extractos de hojas frescas de la especie invasora no generaron efectos sobre la nativa.

En Uruguay, los pastizales presentan síntomas de degradación por pérdida y disminución de la abundancia de especies o ecotipos nativos. Un proceso que promueve este fenómeno de degradación es el de intensificación agrícola en el uso de la tierra, que tuvo como consecuencia directa cambios en la cobertura vegetal natural (Paruelo et al. 2006; Blum et al. 2008). En este contexto, la práctica de interseembra con leguminosas y fertilización fosfatada del pastizal es una estrategia muy adoptada para aumentar los

rendimientos forrajeros. Estas prácticas de manejo favorecieron la invasión de especies exóticas, en particular de *C. dactylon*. *Cynodon dactylon* es una gramínea perenne estival, con metabolismo C₄, originaria de África, que se comporta como invasora en muchos pastizales en el mundo (Matthew 2005). En Uruguay es considerada una de las cinco especies herbáceas invasoras más importantes (Aber et al. 2012), y principal maleza en praderas sembradas (Formoso 2011). Entre las características que la hacen exitosa en estos ecosistemas se destacan su alta tolerancia al pastoreo intensivo, su elevada plasticidad tanto morfológica como en la partición de biomasa en estolones y hojas en función de la disponibilidad de luz, y su exitosa estrategia de propagación vegetativa (Guglielmini and Satorre 2002; Singh et al. 2013). Otro atributo que le confiere una invasividad elevada (Rejmánek 2000), sumada a su capacidad competitiva, es la de presentar propiedades alelopáticas, generalmente de carácter inhibitorio sobre la germinación y el desarrollo de otras especies (Alam et al. 2001; Rezaie and Yarnia 2009; Reza Golparvar et al. 2015; Guido et al. 2020). En pastizales perturbados, en áreas con actividad agrícola y en praderas sembradas, *C. dactylon* se establece y muestra respuesta positiva frente a la fertilización nitrogenada (de Lima et al. 2010; Lezama and Paruelo 2016) y a la interseembra de leguminosas en combinación con fertilización fosfatada (Jaurena et al. 2016; Cáceres 2019). Se observó que, asociado al incremento de *C. dactylon*, se produce una reducción drástica de la diversidad vegetal, así como de la importancia de especies dominantes típicas del pastizal natural (Jaurena et al. 2016).

Sobre la base de lo observado por Jaurena et al. (2016) y Cáceres (2019), cuando la invasión por *C. dactylon* es importante, las especies de *Paspalum* presentan una respuesta diferencial en los pastizales con interseembra y fertilización fosfatada; es decreciente en el caso de *Paspalum notatum* Flüggé y neutra en *Paspalum dilatatum* Poir. En este bioensayo evaluamos el efecto de extractos acuosos de *C. dactylon*, de plantas cosechadas en diferentes estaciones del año provenientes de pastizal natural y de pastizal natural con interseembra y fertilización fosfatada, sobre atributos de la germinación y del crecimiento de plantas adultas de dos especies nativas: *P. notatum* y *P. dilatatum*. Ambas gramíneas, estivales perennes, son componentes relevantes del pastizal natural. Nuestra hipótesis es que el

aumento de nitrógeno y fósforo incrementa el efecto alelopático de *C. dactylon*. Se espera que la germinación de semillas o el crecimiento de plantas de ambas especies de *Paspalum* se afecten al agregar extractos acuosos de plantas de *C. dactylon*. Además, se hipotetiza que las respuestas negativas sobre *P. notatum* son mayores si las plantas de *C. dactylon* provienen de pastizal con interseembra que si provienen de pastizal natural, mientras que no se esperan diferencias en las respuestas de *P. dilatatum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para obtener los extractos acuosos se usaron hojas de plantas de *Cynodon dactylon* colectadas en potreros con pastizal natural (N) y en pastizal con interseembra y fertilización fosfatada (LP) del departamento de Florida, al final del verano (marzo), en otoño (mayo) y en primavera (noviembre) de 2019. Se contempló que la manipulación del material fresco para obtener los extractos fuera mínima, y lo más similar a las condiciones naturales de liberación, para no afectar el resultado de su acción (da Silva et al. 2017; Guido et al. 2020).

Obtención de los extractos acuosos de Cynodon dactylon

Los extractos acuosos, que contienen las sustancias químicas hidrosolubles de *C. dactylon*, se prepararon siguiendo a Guido et al. (2020) y Delachiave et al. (1999). Se cortaron trozos de hojas frescas de 3 a 5 cm de largo, previamente lavados con solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, para evitar la contaminación por microorganismos. Luego, se sumergieron en agua destilada para lograr una concentración de los extractos de 15% (15 g de hojas frescas en 100 mL de agua destilada), y se mantuvieron a la sombra por 48 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se obtuvo el líquido filtrado de cada tratamiento, que fue diluido al 20% en agua destilada (modificado de Delachiave et al. 1999).

Ensayo de germinación de Paspalum notatum y P. dilatatum

Los experimentos de germinación fueron realizados en el Laboratorio de Ecología del Departamento de Sistemas Ambientales (Facultad de Agronomía, Universidad de

la República, Uruguay). Se realizaron dos experimentos, uno en julio de 2019 usando los extractos acuosos de *C. dactylon* de otoño, y otro en diciembre de 2019 con los extractos acuosos de primavera.

Las semillas de *P. notatum* (var. *latifolium* cv. INIA Sepé) y *P. dilatatum* (cv. INIA Estanzuela Chirú) fueron colectadas en diciembre de 2018 de un experimento de jardín común. La cosecha fue por trilla manual para asegurar semillas de mayor calidad. Se conservaron en bolsas ziplock con sílica gel en heladera hasta el momento usarlas en los experimentos de germinación. En cada ensayo, tres réplicas de 30 semillas llenas (espiguilla con cariopse desarrollado) de cada especie fueron seleccionadas a mano para cada tratamiento, asumiendo que las semillas llenas de estas especies tienen alta viabilidad (Glison et al. 2015). Se cotejó la viabilidad de los lotes en agosto de 2021, luego de dos años de conservación en frío y seco. Se ratificó la alta viabilidad de ambos lotes que alcanzó el 98% de las semillas llenas en ambos. Los tratamientos consistieron en suministrar los extractos acuosos de *C. dactylon* cosechados de N o de LP como solución de germinación, más un tratamiento control de agua destilada. Cada réplica fue puesta sobre papel humedecido con 5 mL de la solución correspondiente dentro de una caja Petri de 10 cm con tapa. La germinación se llevó a cabo en cámaras con alternancia de temperaturas 30/20 °C y luz/oscuridad en ciclos de 12/12 h durante 14 días (Marousky and West 1988; Schrauf et al. 1995). Previo al período de germinación, las cajas Petri con las semillas humedecidas se pusieron en heladera (entre 3.5 °C y 4 °C) durante 7 días para estimular la germinación de las semillas.

Se registró la germinación cada 2-3 días tomando como criterio la extensión de 1 mm de la radícula o el coleoptile, y las semillas germinadas fueron retiradas luego de cada recuento. Con los datos de semillas germinadas, se calculó el porcentaje final (a 14 días) de germinación y el índice de la tasa de germinación (ITG). El ITG se obtuvo como

$$\text{ITG} = \%Gi/ti$$

donde %Gi es el porcentaje de semillas germinadas registradas el día *i* y *ti* es el número de días desde el inicio de las condiciones de germinación. Los valores ITG más altos indican una mayor germinación y más rápida (Kader 2005; Panuccio et al. 2014).

Ensayo con plantas adultas de Paspalum notatum y P. dilatatum

Este experimento se realizó en setiembre de 2019, en el invernáculo del Departamento de Biología Vegetal (Facultad de Agronomía, Universidad de la República). Las plantas adultas de *P. dilatatum* y *P. notatum* fueron colectadas en un potrero de campo natural de la estación experimental de Cerro Colorado, del Secretariado Uruguayo de la Lana en el mes de agosto de 2019. Las plantas se extrajeron con 10 cm de suelo para conservar su sistema radical intacto, y luego se aclimataron en invernáculo durante un mes, previo al inicio de los tratamientos. Los tratamientos consistieron en regar cada dos días las plantas de *P. notatum* y de *P. dilatatum* con 60 mL de extractos acuosos de *C. dactylon* cosechados en el verano (marzo) en un pastizal natural y en un pastizal natural intersembrado y con fertilización, más un control con agua destilada durante 4 semanas. Antes y después de aplicar los tratamientos se contó el número de hojas expandidas (con lígula visible) y se midió el largo de cada una para dos macollos por planta. Las medidas se repitieron cinco veces durante los 14 días del experimento. Con estos datos se estimó la tasa de aparición (TAF) y de elongación (TEF) de hojas finales. La tasa de aparición se calculó como

$$\text{TAF} = \text{Nh}/\text{ND}$$

donde Nh es el número de hojas y ND es el número de días de iniciado el experimento. La tasa de elongación de hojas (en cm/día) se calculó como

$$\text{TEF} = \Sigma(\text{LFf}-\text{Lfi})/\text{ND}$$

donde LFf es el largo foliar final, Lfi es el largo foliar inicial y ND es el número de días de iniciado el experimento (Castro et al. 2013). Al finalizar el ensayo se registró la biomasa aérea y subterránea seca de cada planta por tratamiento, para lo cual se realizó el secado en estufa a 60 °C durante 48 horas.

Análisis de datos

Los análisis se llevaron a cabo en el programa InfoStat (di Rienzo et al. 2020). Para estimar el efecto de los extractos acuosos sobre la germinación se realizaron análisis de varianza para cada experimento (otoño y primavera), teniendo como variables independientes a los tratamientos con los extractos acuosos, la especie receptora y su interacción, y como variables de respuesta al porcentaje

final de germinación y al índice de la tasa de germinación. Los datos de germinación final fueron transformados con el arcoseno de la raíz del porcentaje dividido cien para alcanzar la normalización. Para el experimento con plantas adultas se tomaron las mismas variables independientes para el análisis de varianza, con la tasa de aparición de hojas, tasa de elongación foliar y relación biomasa aérea/subterránea. Las comparaciones múltiples se realizaron usando la prueba de Tukey al 0.05 tanto para germinación como para plantas adultas de *P. notatum* y *P. dilatatum*, y contrastes ortogonales entre *Paspalum* (Pn+Pd) y el control para la variable germinación de las semillas.

RESULTADOS

Germinación de semillas

No se detectaron efectos de los extractos acuosos de *C. dactylon* sobre la germinación de semillas de *P. dilatatum* y *P. notatum* en otoño y primavera (Figura 1). Sin embargo, mediante los contrastes ortogonales se observó que en otoño germinaron más semillas de *Paspalum* (promedio de *P. notatum* + *P. dilatatum*) regadas con extractos acuosos provenientes del pastizal con intersembrado en comparación con el control (P=0.003) (Figura 2). Asimismo, en el caso del ITG, las diferencias entre el tratamiento con extractos LP y el control fueron marginalmente significativas (P=0.059). Los tratamientos realizados en el ciclo de primavera no presentaron diferencias significativas entre las variables evaluadas.

En otoño se obtuvo una mayor germinación que en primavera, sin importar tratamiento o especie receptora. La germinación final promedio en esta estación fue 86% para *P. dilatatum* y 56% para *P. notatum* (P<0.001). Para el ITG, se reportó 22.2 en *P. dilatatum* y 10.5 en *P. notatum* (P<0.001) (Tabla 1). En primavera, la germinación final fue 44% y 21% (P=0.002), respectivamente, y el ITG fue 8.9 y 4.2 para *P. dilatatum* y *P. notatum*, respectivamente (P=0.005) (Tabla 1, Figura 1).

Desempeño de plantas adultas

No se detectó efecto del riego de extractos acuosos *C. dactylon* proveniente de N y de LP —comparado con el control— sobre la tasa de aparición de hojas de las especies receptoras (P=0.150), ni entre las especies receptoras (P=0.190) ni la interacción riego x especie (P=0.830). Tampoco se registró efecto

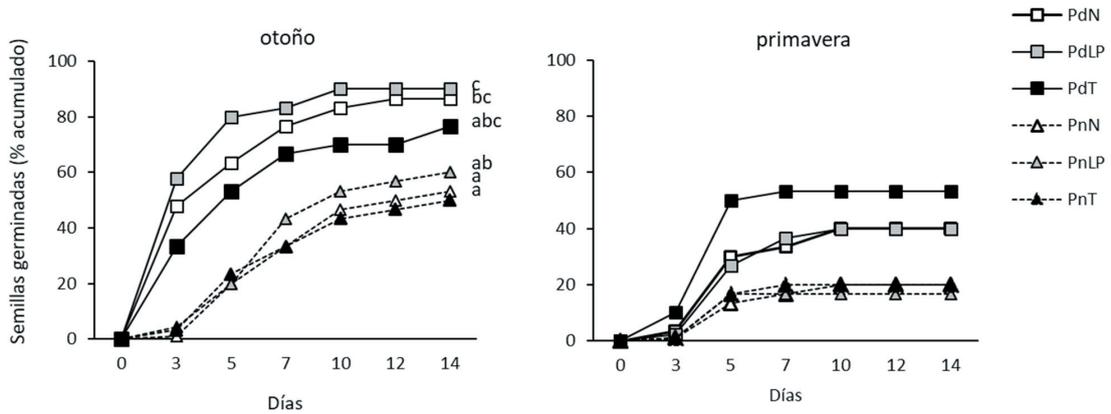


Figura 1. Germinación acumulada de *Paspalum notatum* (Pn) y *Paspalum dilatatum* (Pd) (promedio de semillas germinadas) bajo riego con extractos acuosos de *Cynodon dactylon* proveniente de pastizal natural (N), extractos acuosos de *C. dactylon* proveniente de pastizal con intersemebra y fertilización fosfatada (LP), y agua destilada a modo de control (T), para el experimento de otoño y de primavera. Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos en el porcentaje final de germinación, dentro de cada experimento por la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Figure 1. Cumulative germination of *Paspalum notatum* and *Paspalum dilatatum* (Pn and Pd) (average germinated seeds) under irrigation with aqueous extracts of *Cynodon dactylon* from natural pasture (N), aqueous extracts of *C. dactylon* from pasture with intersewing and phosphate fertilization (LP), and distilled water as control (T), for the autumn and spring experiment. Different letters represent significant differences among treatments in the final germination percentage, within each experiment by Tukey test ($P < 0.05$).

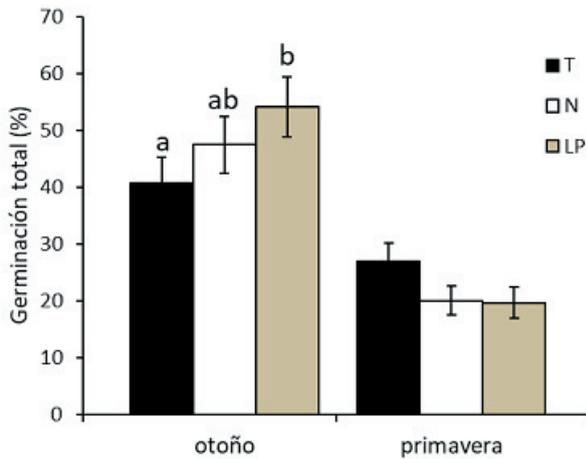


Figura 2. Medias ajustadas del porcentaje final de germinación de semillas de *Paspalum* (*P. notatum* + *P. dilatatum*) regadas con: extractos acuosos de *Cynodon dactylon* proveniente de pastizal natural (N), extractos acuosos de *C. dactylon* proveniente de pastizal con intersemebra y fertilización fosfatada (LP), y agua destilada a modo de control (T), en otoño y primavera. Letras distintas representan diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada experimento por contrastes ortogonales ($P < 0.05$).

Figure 2. Adjusted means of the germination final percentage of seeds of *Paspalum* (*P. notatum* + *P. dilatatum*) watered with: aqueous extracts of *Cynodon dactylon* from natural pasture (N), aqueous extracts of *C. dactylon* from pasture with intersewing and phosphate fertilization (LP), and distilled water as control (T), in autumn and spring. Different letters represent significant differences among treatments, within each experiment by orthogonal contrasts ($P < 0.05$).

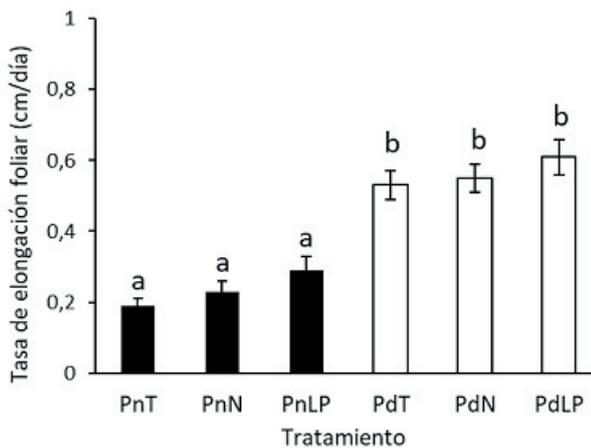


Figura 3. Tasa de elongación foliar en *Paspalum notatum* (Pn) y *Paspalum dilatatum* (Pd) bajo riego con extractos acuosos de *Cynodon dactylon* proveniente de pastizal natural (N), extractos acuosos de *C. dactylon* proveniente de pastizal con intersemebra y fertilización fosfatada (LP), y agua destilada a modo de control (T). Letras distintas representan diferencias significativas entre los tratamientos por la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Figure 3. Leaf elongation rate in *Paspalum notatum* (Pn) and *Paspalum dilatatum* (Pd) under irrigation with: aqueous extracts of *Cynodon dactylon* from natural pasture (N), aqueous extracts of *C. dactylon* from pasture with intersewing and phosphate fertilization (LP), and with distilled water as control (T). Different letters represent significant differences among treatments by Tukey test ($P < 0.05$).

Tabla 1. Medias ajustadas (\pm error estándar) del índice de la tasa de germinación de *Paspalum notatum* (Pn) y *Paspalum dilatatum* (Pd) regadas con extractos acuosos de *Cynodon dactylon* proveniente de pastizal natural (N), extractos acuosos de *C. dactylon* proveniente de pastizal natural con intersiembra y fertilización fosfatada (LP), y agua destilada a modo de control (T).

Table 1. Adjusted means (\pm standard error) of the germination rate index of *Paspalum notatum* (Pn) and *Paspalum dilatatum* (Pd) irrigated with aqueous extracts of *Cynodon dactylon* from natural grassland (N), aqueous extracts of *C. dactylon* from natural grassland with intersowing and phosphate fertilization (LP), and distilled water as control (T).

Tratamientos	Especie	Otoño	Primavera
N	Pd	23.0 \pm 1.5	7.9 \pm 1.2
	Pn	9.7 \pm 0.9	4.3 \pm 1.5
LP	Pd	25.4 \pm 0.7	7.2 \pm 2.6
	Pn	11.8 \pm 1.0	3.9 \pm 0.6
T	Pd	18.2 \pm 3.6	11.6 \pm 1.0
	Pn	9.9 \pm 2.0	4.4 \pm 1.2

del riego para la relación biomasa aérea/subterránea ($P=0.330$), así como de la identidad de las especies receptoras ($P=0.870$) ni de la interacción riego x especie ($P=0.710$).

Paspalum dilatatum presentó una mayor tasa de elongación en comparación con *P. notatum* ($P<0.001$). No se registraron diferencias en la tasa de elongación por el riego con los extractos de N y LP y en el control ($P=0.330$), ni en la interacción entre riego x especie ($P=0.960$) (Figura 3).

DISCUSIÓN

En este estudio se logró una primera aproximación a responder si *C. dactylon* presenta efectos alelopáticos sobre gramíneas perennes estivales nativas de la región como *P. notatum* y *P. dilatatum* y si estos efectos muestran diferencias según el manejo del pastizal natural de donde proviene la especie invasora. Contrariamente a nuestra hipótesis, la acción de extractos acuosos provenientes de hojas frescas de *C. dactylon* en ninguna de las dos fases de desarrollo estudiadas de *P. notatum* explica su reducción drástica asociada a LP. Si bien se constató la afectación en la germinación de *Paspalum* sometidos a riego con extractos acuosos de *C. dactylon* provenientes de LP, el efecto fue, contrariamente a lo esperado, positivo e independiente de la especie receptora para una estación del año (otoño) y neutra para otra (primavera). Por otro lado, las diferencias en germinación entre

P. dilatatum y *P. notatum* no son explicadas por los extractos y son acordes a resultados de emergencia a campo para estas especies (Glison et al. 2021). La mayor germinación obtenida para ambas especies de *Paspalum* en otoño ante el riego de extractos acuosos de *C. dactylon* con origen en LP fue un resultado inesperado. Sinkkonen (2006) explica este tipo de respuesta diferencial a partir de una misma especie donadora sobre las especies receptoras debido a que un aleloquímico puede ser estimulante a bajas concentraciones e inhibitorio a altas concentraciones, así como el tipo y concentración de compuesto alelopático y su patrón de liberación (Alam et al. 2001; Cecchin et al. 2017; Scheffer et al. 2019). Por otra parte, Simão et al. (2017) proponen que los extractos frescos pueden contener nitratos, compuestos nitrogenados oxidados y compuestos fenólicos (e.g., las catequinas), que promueven la germinación de especies de *Paspalum* y de otras gramíneas estivales (Johnston and Miller 1964; Sarath et al. 2006). Este resultado desafía la concepción de efectos inhibitorios de los aleloquímicos y plantea el enfoque que Hierro y Callaway (2021) postulan sobre considerar la visión original de la alelopatía como un mecanismo inhibitorio o estimulante para las plantas receptoras. En cambio, en la primavera no se observó un efecto sobre la germinación de las especies receptoras, lo que sugiere que las diferencias registradas en el experimento de otoño fueron circunstanciales. Sin embargo, no deberían desecharse otras consideraciones, como que la composición de los extractos puede variar según la estación del año y el momento del ciclo de vida de las plantas donadoras (Bokhari et al. 1978; Hashoum et al. 2017).

Asimismo, la ausencia de respuesta por parte de las plantas adultas de *Paspalum* podría evidenciar el efecto neutro de los posibles aleloquímicos en los extractos acuosos de hojas de *C. dactylon* sobre estas dos especies. Sin embargo, sería necesario considerar cómo pueden afectar diferentes concentraciones de los extractos acuosos el desempeño de las plantas, y el origen de dichas sustancias, ya que en este estudio sólo se consideraron las estructuras aéreas verdes de la planta (Callaway and Ridenour 2004).

A la luz de nuestros resultados, es necesario considerar otros factores que podrían promover desde la disminución de la cobertura de *P. notatum* en los LP hasta, incluso, su extinción local. *Cynodon dactylon* y *P. notatum* comparten las características de

presentar estolones y hábito de crecimiento postrado. Esto les confiere similares capacidades de expansión en el suelo y de uso de los recursos, por lo que la competencia sería mayor entre estas especies en comparación con *P. dilatatum*. Sin embargo, el éxito de *C. dactylon* se debería a la capacidad de captar los nutrientes disponibles en el LP (de Lima et al. 2010; Tognetti and Chaneton 2014; Cáceres 2019). Por una parte, la germinación de las especies de *Paspalum* responde a la presencia de nitratos y de luz, que se puede asociar a características del micrositio necesarias para la germinación y emergencia de plántulas, así como suelos perturbados y ausencia de vegetación (Cornaglia et al. 2009).

Consideraciones finales

Investigar qué prácticas y manejos de los sistemas ganaderos afectan la presencia y abundancia de *C. dactylon* y estudiar las interacciones de esta especie invasora con la comunidad nativa es un desafío clave para evitar que se expanda a sitios donde aún no está presente o es escasa su abundancia (Ziller et al. 2005). También es un desafío mantener o reducir su presencia donde ya está instalada (Mack et al. 2000; Levine et al. 2004).

Las evidencias obtenidas en este estudio indicarían que los extractos acuosos de *C. dactylon*, obtenidos de material fresco y en las concentraciones estudiadas, no explicarían el éxito invasor de esta especie y el decrecimiento de *P. notatum* en pastizal con interseembra y fertilización fosfatada, aunque surgen limitantes al momento de evaluar nuestros resultados. Consideramos que la elección del método de obtención de los extractos fue adecuada, al hacer una manipulación mínima de las estructuras vegetales, además de ser una metodología reportada en diversos estudios (Delachiave et al. 1999; Scheffer-Basso et al. 2019; Guido et al. 2020; Zhang et al. 2020). Sin embargo, la concentración de los extractos puede no representar lo que ocurre en condiciones naturales. Al no contar con antecedentes locales sobre la concentración del extracto en situación de campo, y de estudios sobre la alelopatía en los pastizales de la región, los valores ensayados se adoptaron a partir de investigaciones previas con *C. dactylon* como planta donadora (Delachiave

et al. 1999; Guido et al. 2020), pero podrían no ser los más indicados. Asimismo, en este estudio sólo se consideraron las sustancias hidrosolubles de las estructuras aéreas frescas de la invasora, por lo que sería necesario complementar los resultados considerando otras fuentes de sustancias exudadas, tales como hojas secas, raíces, o del producto de la descomposición de material vegetal.

Las condiciones experimentales planteadas en este estudio simplifican la complejidad de las condiciones de campo, y coincidimos con Guido et al. (2020) en considerar con especial cuidado la extrapolación de nuestros resultados a situaciones reales de campo. Por ello, de manera complementaria, el desafío es diseñar experimentos en condiciones naturales que permitan discriminar, por ejemplo, la competencia por recursos del fenómeno alelopático (Callaway and Ridenour 2004; Lorenzo et al. 2013). Por otra parte, la información obtenida del efecto de los extractos acuosos sobre la germinación de semillas es limitada para poder establecer otros potenciales mecanismos de interferencia (Hierro and Callaway 2021). En el caso particular de la evaluación del efecto sobre plantas adultas, un aspecto limitante a considerar es la duración del estudio, ya que las plantas fueron evaluadas durante un mes, un período probablemente corto para detectar cambios en el desarrollo y el crecimiento de las mismas. Existen otros métodos de estudio para comprobar la ocurrencia del mecanismo de alelopatía, que contemplan mejor las condiciones de campo en la que puede ocurrir (da Silva et al. 2017; Zhang et al. 2020). Por ejemplo, analizar los niveles fenólicos del suelo durante diferentes épocas del año, en vez de tomar muestras en una sola época del año, así como analizar la composición de los aleloquímicos considerando la región de origen de la especie (Guido et al. 2020).

AGRADECIMIENTOS. A Bettina Lado por su asesoramiento estadístico, Carolina Tassano, Martín Baez y Silvina García por su asistencia en el trabajo de campo y registro de datos. Este trabajo contó con el apoyo económico de los proyectos CSIC I+D 556 e Innovagro 148811. Agradecemos a los editores y a tres revisores anónimos que brindaron sugerencias constructivas que mejoraron el manuscrito.

REFERENCIAS

- Aber, A., G. Ferrari, J. F. Porcile, E. Rodríguez, and S. Zerbino (eds.). 2012. Identificación de prioridades para la gestión nacional de las especies exóticas invasoras. CEEI. Comité Nacional de Especies Exóticas Invasoras. DINAMA, MVOTMA, UNESCO, Uruguay.
- Alam, S. M., S. A. Ala, R. Ansari, and M. A. Khan. 2001. Influence of leaf extract of Bermuda grass (*Cynodon dactylon* L.) on the germination and seedling growth of wheat. *Wheat Information Service* 92:17-19.
- Blum, A., I. Narbondo, and G. Oyhantcabal. 2008. ¿Dónde nos lleva el camino de la soja? Sojización a la uruguaya: principales impactos socioambientales. Uruguay RAP-AL4. Pp. 42.
- Bokhari, U. G. 1978. Allelopathy among prairie grasses and its possible ecological significance. *Annals of Botany* 42: 127-136. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a085432>.
- Cáceres, D. 2019. Cambios en el largo plazo en la salud del Campo Natural asociados a la tecnología de Mejoramientos Extensivos con *Lotus subbiflorus* cv "El rincón". Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo. Uruguay. Pp. 53.
- Callaway, R. M., and E. T. Aschehoug. 2000. Invasive Plants Versus Their New and Old Neighbors: A Mechanism for Exotic Invasion. *Science* 290(5491):521-523. <https://doi.org/10.1126/science.290.5491.521>.
- Callaway, R. M., and W. M. Ridenou. 2004. Novel weapons: invasive success and the evolution of increased competitive ability. *Frontiers Ecology Environment* 2:436-443. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2004\)002\[0436:NWISAT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0436:NWISAT]2.0.CO;2).
- Castro, R., A. Hernández, O. Ramírez, G. Aguilar, J. F. Enríquez, and S. I. Mendoza. 2013. Crecimiento en longitud foliar y dinámica de población de tallos de cinco asociaciones de gramíneas y leguminosa bajo pastoreo. *Rev Mex Cienc Pecu* 4:201-215.
- Cecchin, K., A. Favaretto, S. M. Scheffer-Basso, C. D. Bertol, and S. O. Chini. 2017. Allelopathy and allelochemicals of *Eragrostis plana* (poaceae) and its relation with phenology and nitrogen fertilization. *Planta Daninha* 35:e017157907. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582017350100028>.
- Cornaglia, P. S., G. E. Schrauf, and V. A. Deregibus. 2009. Flooding and grazing promote germination and seedling establishment in the perennial grass *Paspalum dilatatum*. *Austral Ecology* 34:343-350. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2009.01935.x>.
- da Silva, E. R., G. E. Overbeck, and G. L. Gonçalves Soares. 2017. Something old, something new in allelopathy review: what grassland ecosystems tell us. *Chemocology* 27:217-231. <https://doi.org/10.1007/S00049-017-0249-x>.
- de Lima, C. P., C. Backes, R. L. Villas Boas, R. de Oliveira, T. A. Manabe Kiihl, and E. E. Freitag. 2010. Seção IV-fertilidade do solo e nutrição de plantas. Bermuda grass sod production as related to nitrogen rates. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 34(2):371-377. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832010000200010>.
- Delachiave, M. E., E. O. Orika Ono, and J. Domingos Rodrigues. 1999. Efeitos alelopáticos de grama-seda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) na germinação de sementes de pepino, milho, feijão e tomate. *Revista Brasileira de Sementes* 21: 194-197. <https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v21n1p194-197>.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, and C. W. Robledo. 2020. InfoStat Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: infostat.com.ar.
- Formoso, F. 2011. Manejo de mezclas forrajeras y leguminosas puras. Producción y calidad del forraje. Efectos del estrés ambiental e interferencia de gramilla (*Cynodon dactylon* (L) PERS.) Montevideo Insitituto Nacional de Investigación Agropecuaria.
- Glison, N., J. Viegas, P. Cornaglia, L. Gutiérrez, and P. Speranza. 2015. Variability in germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds is genotype dependent. *Grass and Forage Science* 70:144-153. <https://doi.org/10.1111/gfs.12119>.
- Glison, N., D. Batlla, P. González Barrios, L. Viegas, S. Saldanha, E. M. Musacchio, P. Rush, and P. R. Speranza. 2021. Modelling seedling emergence in *Paspalum* species using environmental data from field experiments. *Grass and Forage Science* 76:363-377. <https://doi.org/10.1111/gfs.12515>.
- Gniazdowska, A. and R. Bogate. 2005. Allelopathic interactions between plants. Multisite action of allelochemicals *Acta Physiologiae Plantarum* 27:395-407. <https://doi.org/10.1007/s11738-005-0017-3>.
- Guglielmini, A. C., and E. H. Satorre. 2002. Shading effects on spatial growth and biomass partitioning of *Cynodon dactylon*. *Weed Research* 42:123-134. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2002.00268.x>.
- Guido, A., A. Quiñones, A. L. Pereira, and E. R. Da Silva. 2020. Are the invasive grasses *Cynodon dactylon* and *Eragrostis plana* more phytotoxic than a co-occurring native? *Ecología Austral* 30:295-303. <https://doi.org/10.25260/EA.20.30.2.0.1090>.
- Hashoum, H., M. Santonja, T. Gauquelin, A. Saatkamp, J. Gavinet, S. Greff, C. Lecareux, C. Fernández, and A. Bousquet-Mélou. 2017. Biotic interactions in a Mediterranean oak forest: role of allelopathy along phenological development of woody species. *European Journal of Forest Research* 136:699-710. <https://doi.org/10.1007/s10342-017-1066-z>.
- Hierro, J. L., and R. M. Callaway. 2021. The ecological importance of allelopathy. *Annual Reviews* 52:25-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-051120-030619>.
- Inderjit, and R. M. Callaway. 2003. Experimental designs for the study of allelopathy. *Plant and Soil* 256:1-11. <https://doi.org/10.1023/A:1026242418333>.
- Inderjit, T. R. Seastedt, R. M. Callaway, and J. Pollock. 2008. Allelopathy and plant invasions: Traditional, congeneric, and bio-geographical approaches. *Biological Invasions* 10:875-890. <https://doi.org/10.1007/s10530-008-9239-9>.
- Jaurena, M., F. Lezama, L. Salvo, G. Cardozo, W. Ayala, J. Terra, and C. Nabinger. 2016. The dilemma of improving

- native grasslands by overseeding legumes: production intensification or diversity conservation. *Rangeland Ecology and Management* 69:35-42. <https://doi.org/10.1016/j.rama.2015.10.006>.
- Johnston, M., and J. Miller. 1964. Investigations into techniques for the germination of *Paspalum dilatatum*. *Proceedings of the International Seed Testing Association* 29:145-148.
- Kader, M. A. 2005. A comparison of seed germination calculation formulae and the associated interpretation of resulting data *Journal and Proceeding of the Royal Society of New South Wales* 138:65-75.
- Kalisz, S., S. N. Kivlin, and L. Bialic-Murphy. 2021. Allelopathy is pervasive in invasive plants. *Biological Invasions* 23: 367-371. <https://doi.org/10.1007/s10530-020-02383-6>.
- Levine, J. M., P. B. Adler, and S. G. Yelenik. 2004. A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters* 7:975-989. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00657.x>
- Lezama, F., and J. M. Paruelo. 2016. Disentangling grazing effects: trampling, defoliation and urine deposition. *Applied Vegetation Science*. <https://doi.org/10.1111/avsc.12250>.
- Lorenzo, P., M. I. Hussain, and L. González. 2013. Allelopathy from ecological perspectives. Role of allelopathy during invasion process by alien invasive plants in terrestrial ecosystems. Pp. 3-22 *en* Z. Cheema, M. Farooq and A. Wahid (eds.). *Allelopathy. Current trends and future applications*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30595-5_1.
- Mack, R. N., D. Simberloff, W. M. Lonsdale, H. Evans, M. Clout, and F. A. Bazzaz. 2000. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control. *Issues in Ecology* 5:1-20. <https://doi.org/10.2307/2641039>.
- Makoi, J. H. J. R., and P. A. Ndadikemi. 2012. Allelopathy as protectant, defense and growth stimulants in legume cereal mixed culture systems. *New Zealand Journal of Crop and Horticulture Science* 40(3):161-186. <https://doi.org/10.1080/01140671.2011.630737>.
- Marousky, F. J., and S. H. West. 1988. Germination of bahiagrass in response to temperature and scarification. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113:845-849.
- Matthews, S. 2005. GISP. El programa mundial sobre especies invasoras. URL: tinyurl.com/3x6zdt4.
- Oenema, O., C. de Klein, and M. Alfaro. 2014. Intensification of grassland and forage use: driving forces and constraints. *Crop and Pasture Science* 65:524-537. <https://doi.org/10.1071/CP14001>.
- Panuccio, M. R., S. E. Jacobsen, S. S. Akhtar, and A. Muscolo. 2014. Effect of saline water on seed germination and early seedling growth of the halophyte quinoa. *AoB Plants* 6:plu047. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu047>.
- Paruelo, J. M., J. P. Guerschman, G. Piñeiro, E. G. Jobbágy, S. R. Verón, G. Baldi, and S. Baeza. 2006. Cambios en el uso de la tierra en Argentina y Uruguay: marcos conceptuales para su análisis. *Agrociencia* 10:47-61.
- Preston, C. A., H. Betts, and I. T. Baldwin. 2002. Methyl jasmonate as an allelopathic agent: Sagebrush inhibits germination of a neighboring tobacco, *Nicotiana attenuata*. *Journal of Chemical Ecology* 28:2343-2369. <https://doi.org/10.1023/A:1021065703276>.
- Rejmánek, M. 2000. Invasive plants: approaches and predictions. *Austral Ecology* 25:497-506. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2000.01080.x>.
- Reza Golparvar, A., R. Hadipanah, A. Sepehri, and S. Salehi. 2015. Allelopathic effects of bermuda grass (*Cynodon dactylon* L. Pers.) extract on germination and seedling growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and common purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* 6(5):137-143. URL: innspub.net.
- Rezaie, F., and M. Yarnia. 2009. Allelopathic effects of *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* and *Cynodon dactylon* on germination and growth of safflower. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7:516-521.
- Sarath, G., P. C. Bethke, R. Jones, L. M. Baird, G. Hou, and R. B. Mitchell. 2006. Nitric oxide accelerates seed germination in warm-season grasses. *Planta* 223:1154-1164. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0162-3>.
- Schrauf, G. E., P. S. Cornaglia, V. A. Deregibus, and M. G. Rissola. 1995. Improvement germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds under different pre-conditioning treatments. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38:501-509. <https://doi.org/10.1080/00288233.1995.9513152>.
- Scheffer-Basso, S. M., F. Jr. R. Fiorentin, and A. Favaretto. 2019. Influence of phenology and post-harvest processing of vegetal material on the allelopathy of Annoni grass (*Eragrostis plana*) extracts. *Planta Daninha* 37:e01917663. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582019370100013>.
- Simão, A. A., T. R. Marques, S. Marcussi, and A. D. Corrêa. 2017. Aqueous extract of *Psidium guajava* leaves: phenolic compounds and inhibitory potential on digestive enzymes. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências* 89:2155-2165. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160067>.
- Singh, K., V. C. Pandey, and R. P. Singh. 2013. *Cynodon dactylon*: an efficient perennial grass to revegetate sodic lands. *Ecological Engineering* 54:32-38. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.01.007>.
- Sinkkonen, A. 2006. Ecological relationships and allelopathy. Pp. 373-393 *en* M. J. Reigosa, N. Pedrol and L. González (eds.). *Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications*. Springer, Holanda.
- Tognetti, P., and E. Chaneton. 2014. Community disassembly and invasion of remnant native grasslands under fluctuating resource supply. *Journal of Applied Ecology* 52(1):119-128. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12349>.
- Wise, K., H. Gill, and J. Selby-Pham. 2020. Willow bark extract and the biostimulant complex Root Nectar® increase propagation efficiency in chrysanthemum and lavender cuttings. *Scientia Horticulturae* 263:109108. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109108>.
- Zhang, Z., Y. Liu, L. Yuan, W. Weber, and M. van Kleunen. 2020. Effect of allelopathy on plant performance: a meta-analysis. *Ecology Letters* 24(2):348-362. <https://doi.org/10.1111/ele.13627>.
- Ziller, S. R., J. K. Reaser, L. E. Neville, and K. Brandt (eds.). 2005. *Invasive species in South America: national reports and directory of resources*. Global Invasive Species Programme. Cape Town, South Africa.