

AROMÁTICAS

Influencia de los extractos acuosos de rizomas de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* L.) sobre la micorrización y el crecimiento de plantas de *Mentha x piperita* L.

C. Arango¹; M. Ruscitti¹; M. Ronco¹⁻² y J. Beltrano¹⁻²

¹INFIVE (CCT CONICET La Plata - Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata). ²CICBA. jbeltrano@agro.unlp.edu.ar

Recibido: 4/5/12

Aceptado: 6/6/13

Resumen

Arango, C.; Ruscitti, M.; Ronco, M. y Beltrano, J. 2013. Influencia de los extractos acuosos de rizomas de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* L.) sobre la micorrización y el crecimiento de plantas de *Mentha x piperita* L. Horticultura Argentina 32(78): 22-29.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de extractos acuosos de rizomas de *Sorghum halepense* (sorgo de Alepo) sobre la colonización micorrízica, la viabilidad de las estructuras fúngicas, la biomasa total, la conductividad relativa de las membranas celulares y la fotosíntesis de plantas de *Mentha x piperita* L. Estacas de menta enraizadas inoculadas y no inoculadas con *Glomus intraradices* B₁ o *Glomus mosseae* crecieron durante 60 días en una mezcla de perlita:vermiculita:arena tinalizada, regadas con solución de Hoagland y con cuatro concentraciones de extracto acuoso de rizomas de sorgo de Alepo S: 0 %, 5 %, 10 %, 15 %. El experimento fue realizado en invernáculo siguiendo un diseño experimental completamente al azar en un factorial 3 x 4. El mayor

nivel de colonización micorrízica se presentó en los tratamientos libres de sorgo de Alepo, 87 % y 92 % para *G. mosseae* y *G. intraradices* respectivamente, disminuyendo significativamente con la mayor dosis de extracto. La viabilidad de las estructuras fúngicas también disminuyó significativamente. La dependencia micorrízica aumentó un 35 % con la mayor dosis de extracto. Las mayores concentraciones redujeron significativamente la biomasa total y la fotosíntesis neta, aumentando la conductividad relativa de las membranas de hojas y raíces. Las plantas inoculadas mostraron un mejor comportamiento comparadas con las no inoculadas. Los extractos acuosos de sorgo de Alepo disminuyeron el crecimiento de las plantas mientras que la inoculación con hongos micorrízicos mitigó sus efectos adversos.

Palabras clave adicionales: *phylum* Glomeromycota, alelopatía, micorrizas, succinato deshidrogenasa, fotosíntesis.

Abstract

Arango, C.; Ruscitti, M.; Ronco, M. and Beltrano, J. 2013. Influence of aqueous extracts of Johnson grass rhizomes on mycorrhizal colonization and plant growth of *Mentha x piperita* L. Horticultura Argentina 32(78): 22-29.

The aim of this work was to evaluate the effects of aqueous extracts of rhizomes of *Sorghum halepense* on mycorrhizal colonization, succinate dehydrogenase activity, total dry weight, relative conductivity cell membrane and net photosynthesis in *Mentha x piperita* plants. Rooted cuttings non inoculated or inoculated with *Glomus intraradices* or *Glomus mosseae* grown during 60 days into an inert tyndallized substrate, irrigated with Hoagland solution and four concentrations of aqueous extracts of Johnson grass rhizomes: 0 %, 5 %, 10 % and 15 %. The experiment was carried out in a greenhouse, in 3 x 4 factorial arrangement, in completely ran-

domized design. The higher mycorrhizal colonization occur in treatments without Johnson grass, 87 % and 92 % by *G. mosseae* and *G. intraradices* respectively, and decreasing significantly with the higher doses of extract. The fungus structures viability decreasing significantly with the higher doses of extract, and the mycorrhizal dependency increased by 35 % with the highest dose of extract. The higher concentrations of extract reduced the total biomass and photosynthesis, and increase the relative conductivity the membranes of leaves and roots. The inoculated plants showed a better performance than non-inoculated. Aqueous extracts of Johnson grass decreased plant growth while inoculation with mycorrhizal fungi reduces adverse effects.

Additional keywords: *phylum* Glomeromycota, allelopathy, mycorrhiza, succinate deshydrogenase, photosynthesis.

1. Introducción

El sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* L. Pers.) es una de las principales malezas invasoras perennes que ocasiona serios inconvenientes en el crecimiento y desarrollo de los cultivos estivales. La infestación por sorgo de Alepo en las áreas agrícolas constituye un

grave problema debido a las dificultades para su control. Esta maleza presenta una elevada tasa de producción de rizomas, una planta puede generar de 40 a 90 m de rizomas por estación de crecimiento y 28.000 semillas por planta (Horowitz, 1973).

La reducción de la biomasa y el rendimiento de los cultivos, en presencia de sorgo de Alepo, es resultante

de su competencia por agua, luz y nutrientes y por la producción y liberación al medio de sustancias alelopáticas. Los compuestos alelopáticos son producto del metabolismo secundario y su composición química y concentración varían de acuerdo a las especies, la edad de las plantas y las condiciones climáticas (Dayan, 2006). Las sustancias alelopáticas son liberadas al ambiente edáfico por volatilización, lixiviación, exudación radical o descomposición de las plantas e incorporados al suelo (Rice, 1984).

Numerosos trabajos han demostrado el efecto adverso de las sustancias alelopáticas presentes en el sorgo de Alepo sobre el crecimiento y rendimiento de cultivos de importancia agronómica como el maíz, cebada, soja y trigo (Putman & Weston, 1986; Beltrano & Montaldi, 1980; Rosales Robles *et al.*, 1999; Acciarresi & Asenjo, 2003). Entre los compuestos químicos de acción alelopática identificados a partir de la descomposición de residuos de sorgo de Alepo se encuentran p-benzoquinonas (sorgoleona), glucósidos cianogénicos, taninos y ácidos fenólicos (p-cumárico, ferúlico, vanílico) (Einhelling, 1996; Sene *et al.*, 2001). También se ha estudiado la persistencia a lo largo del tiempo de dichos compuestos en el suelo (Einhellin & Souza, 1992) y la susceptibilidad de los mismos a la degradación microbiana (Blum, 1998). Todos los procesos fundamentales llevados a cabo por el metabolismo vegetal, tales como la respiración, fotosíntesis, síntesis de clorofila, síntesis proteica, permeabilidad de membranas y las relaciones hídricas pueden ser alteradas por estas sustancias alelopáticas (Yamane *et al.*, 1992).

No existe información sobre el grado de interferencia del sorgo de Alepo sobre el cultivo de plantas aromáticas, como *Mentha x piperita* (menta), a pesar que las áreas de su cultivo se superponen con el de esta maleza. Además, se ha demostrado que las sustancias alelopáticas pueden incrementar la habilidad competitiva de las plantas que las producen, por un efecto directo sobre los individuos próximos, o induciendo efectos indirectos, al provocar disturbios en las asociaciones benéficas de ciertas plantas con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y bacterias, disminuyendo la capacidad de los cultivos para obtener recursos tales como el agua, y nutrientes poco móviles como el fósforo y el nitrógeno.

Las micorrizas son asociaciones simbióticas que se establecen entre hongos del *phylum* Glomeromycota y las raíces de la mayoría de las plantas (Smith & Read, 1997).

El principal papel de las micorrizas arbusculares es favorecer la absorción de fósforo y de otros elementos poco solubles y de baja movilidad como el

amonio, potasio, cobre, hierro y zinc (Smith & Read, 1997). La información acerca del efecto de los compuestos alelopáticos sobre los HMA es escasa. Numerosos investigadores estudiaron el efecto de los exudados radicales sobre el crecimiento de hongos formadores de micorrizas arbusculares. Investigaciones realizadas con *Alliaria petiolata* identifican como uno de los mecanismos de competencia de esta especie invasora, la producción de sustancias con propiedades aleloquímicas que resultan inhibitorias sobre la formación de asociaciones micorrícicas (Stinson *et al.*, 2006). Otras investigaciones demostraron que, cuando el trigo era cultivado sobre un rastrojo de arroz, el efecto de las sustancias alelopáticas del arroz disminuyeron la capacidad de *Glomus monosporum* para formar esporas y esporocarpos comparados con el monocultivo de trigo (Nasim, 2008). En el mismo sentido se determinó que el estrés alelopático producido por *Melia azedarach* L. redujo la colonización micorrícica en plantas de maíz (Bajwa, 2005). No obstante Siqueira *et al.* (1992) encontraron que la aplicación exógena de compuestos fenólicos estimulaba la población de HMA indígenas, provocando un incremento en el crecimiento y rendimiento de los cultivos. En síntesis, se ha demostrado que los efectos de las sustancias alelopáticas están influenciados por el momento de aplicación y por las concentraciones empleadas, pudiendo actuar tanto como inhibidores o como estimulantes del crecimiento de raíces o tallos (Setyowati & Simaramata, 1999). Esta respuesta podría ser un típico caso de hormesis, interpretando este fenómeno como la relación que se observa entre la dosis y la respuesta en que se determina una estimulación de la respuesta (crecimiento) a bajas dosis e inhibición (del crecimiento) a dosis más elevadas (Calabrese & Baldwin, 2003).

Por otro lado, se ha encontrado que la inoculación de maíz con HMA morigeraba en forma significativa el estrés alelopático causado por la incorporación de *Melia azedarach* L., mejorando el crecimiento de tallos y raíces de la gramínea (Javaid & Bajwa, 1999). Este beneficio, citado también para otras especies podría atribuirse a la mejora en el estado nutricional de las plantas micorrizadas (Javaid, 2007). No obstante las investigaciones realizadas de los efectos inducidos por las sustancias alelopáticas sobre la colonización micorrícica, se siguen planteando incógnitas tales como: velocidad de infestación, actividad y viabilidad de hifas y dependencia micorrícica en presencia de compuestos alelopáticos.

La *Mentha x piperita* L. es una de las especies de menta más cultivadas en Argentina. Comúnmente se la denomina "menta inglesa" o "menta Mitcham"; es

una especie herbácea perenne de interés comercial. Su cultivo presenta expectativas de expansión en una amplia región geográfica del país; existiendo un aumento de la demanda del producto fresco, como así también de su aceite esencial.

Se ha demostrado a nivel experimental el efecto de la inoculación con HMA en especies aromáticas y medicinales como romero, orégano y menta, que muestran un aumento de la biomasa, rendimiento en aceites esenciales además de un mayor contenido en clorofila, actividad fotosintética y conductancia estomática de las plantas (Azcón & Barea, 1997; Gupta *et al.*, 2002; Freitas *et al.*, 2004; Cabello *et al.*, 2005; Arango *et al.*, 2006).

Considerando la importancia económica del cultivo de menta, la respuesta favorable a la micorrización con HMA y teniendo en cuenta los comprobados efectos alelopáticos del sorgo de Alepo sobre los cultivos, se plantea la hipótesis que los extractos acuosos de rizomas de sorgo de Alepo afectan el crecimiento de las plantas, la permeabilidad de las membranas celulares y la fotosíntesis de *Mentha x piperita* L. y la colonización micorrízica morigeran este efecto detrimental. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de extractos acuosos de rizomas de sorgo de Alepo sobre la colonización micorrízica, la viabilidad de las estructuras fúngicas, la acumulación de biomasa, permeabilidad de las membranas celulares y fotosíntesis de plantas de *Mentha x piperita* L.

2. Materiales y métodos

Los ensayos se realizaron en invernáculo del Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP) en la ciudad de La Plata, ubicada a 34° S, 58° O. Estacas de *Mentha x piperita* L., se obtuvieron de plantas provenientes de parcelas experimentales pertenecientes al Laboratorio de Bioquímica y Fitoquímica (EE J.H. Hirschhorn, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP). Las estacas se colocaron en potes plásticos de 250 cm³ de capacidad, con un sustrato de arena: perlita:vermiculita (1:1 :1 v/v) tindalizada, previa colocación de 12 g de inóculo micorrízico. El inóculo estaba constituido por una mezcla de sustrato, hifas, esporas (40 a 70 esporas·g⁻¹ de

inóculo) y fragmentos de raíces de trébol (*Trifolium repens* L.) micorrizadas con HMA: *Glomus intraradices* B1 (IB1) (Banco *in vitro* de Glomeromycota, BGI, Buenos Aires, Argentina) o *Glomus mosseae* (IM) (aislado SB1, Colección del Instituto Spegazzini, UNLP). A los potes no inoculados (NI) se les agregó la misma cantidad de sustrato y 12 g de inóculo previamente autoclavado (inactivado), a fin de uniformar las condiciones de crecimiento. El inóculo utilizado en los ensayos se obtuvo a partir de la reproducción de dos cepas de HMA, *Glomus mosseae* y *Glomus intraradices* B1. Como planta trampa se utilizó trébol blanco (*Trifolium repens* L.) cultivadas durante tres meses, en suelo tindalizado.

La preparación del extracto acuoso se realizó a partir de rizomas de sorgo de Alepo obtenidos de plantas provenientes de infestaciones espontáneas en la zona de La Plata. Los rizomas se lavaron con agua y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10 % durante 10 minutos, se enjuagaron con agua destilada estéril, se secaron a temperatura ambiente (25 °C), se molieron y maceraron en agua durante 72 horas. Luego, el macerado se filtró con una doble tela de queso y el producto del filtrado se centrifugó a 4.000 rpm por 30 minutos, guardando el sobrenadante a 4 °C hasta el momento de su utilización. Las distintas concentraciones de extracto de rizomas de sorgo de Alepo fueron preparadas a partir de una solución madre de 25 g de rizomas en 100 mL de agua destilada (Javaid & Anjum, 2006).

Una vez plantadas, las estacas se mantuvieron a capacidad de campo y dos veces por semana se agregó solución nutritiva de Hoagland con diluciones al 0, 5, 10 y 15 % del extracto obtenido a partir de los rizomas de sorgo de Alepo.

Las plantas se cultivaron durante 60 días en invernáculo. Al final del experimento se realizaron las siguientes determinaciones:

Tabla 1. Colonización micorrízica (%M), viabilidad de estructuras fúngicas (%SDH) y dependencia micorrízica (%DM) en plantas de *Mentha x piperita* L. inoculadas con *Glomus mosseae* (IM) y *Glomus intraradices* (IB1) que crecieron con diferentes concentraciones de extracto de rizomas de sorgo de Alepo. Referencias: S0: 0 %; S1: 5 %; S2: 10 %; S3: 15 %.

Tratamientos	%M		%SDH		%DM	
	IM	IB1	IM	IB1	IM	IB1
S0	87 a	92 a	35,5 a	64,4 a	35,1 a	41,7 a
S1	72 b	86 ab	37,7 a	54,3 b	46,0 a	41,8 a
S2	55 c	77 b	24,2 b	49,0 b	74,4 b	73,2 b
S3	65 bc	79 b	21,0 b	34,0 c	72,8 b	75,1 b
C.V. (%)	14,2		18,3		19,2	

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas entre las medias (P < 0,05).

El área foliar por planta (AF) se determinó utilizando un medidor de área foliar LI-3000. La biomasa de hojas, tallos y raíces se obtuvo por secado en estufa a 80 °C hasta peso constante (PST).

La colonización micorrícica se evaluó de acuerdo a Trouvelot *et al.* (1986) y se expresó como porcentaje de micorrización (%M). La tinción de las raíces se realizó con la técnica de Phillips & Hayman (1970) empleando KOH al 10 % (p/v) para clarificar las raíces y azul de tripán en lactofenol. Se observó la presencia de estructuras fúngicas con microscopio óptico, sobre 30 fragmentos de raíces de 1 cm de longitud, por planta, con seis repeticiones. El %M se calculó como la proporción de raíces infectadas sobre el número total de fragmentos analizados.

La determinación de la viabilidad de las estructuras fúngicas se evaluó a través de la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa (% SDH), basada en el porcentaje de micorrización, de acuerdo a Smith & Gianinazzi-Pearson (1990). Además, se calculó la dependencia micorrícica (DM), de acuerdo a la fórmula:

$$DM = ((PST \text{ de plantas micorrizadas} - PST \text{ de plantas no micorrizadas}) / PST \text{ de plantas micorrizadas}) \cdot 100$$

La conductividad relativa de las membranas celulares de hoja y raíz (CR) se determinó de acuerdo a Lutts *et al.* (1996) modificado, a partir de 500 mg de hoja y raíz por tratamiento, utilizando un conductímetro Digicond IV. La CR se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$CR = (C1 / C2) \cdot 100$$

Donde C1 y C2 representan la pérdida de electrolitos, expresada como la conductividad eléctrica (dS·m⁻¹), medida después de 4 h de incubación a 25 °C (C1) y luego de calentada a 120 °C durante 20 min (C2). La tasa fotosintética (μmol CO₂·m⁻²·s⁻¹) se determinó utilizando un analizador portátil de fotosíntesis IRGA (infrared gas analyzer) (Ciras-2, PP System).

El diseño experimental fue completamente aleatorizado con seis repeticiones para cada tratamiento, en un factorial de 3 x 4, con tres niveles de micorrización (NI;

IB1; IM) y cuatro niveles de extracto acuoso de sorgo de Alepo (S0: libre de extracto; S1: extracto al 5 %; S2: extracto al 10 %; S3: extracto al 15 %). Los datos fueron sometidos a análisis de la varianza y las medias comparadas por el test de LSD al 5 % (Sigma-stat 3.0). Los datos porcentuales de micorrización y de actividad de SDH se transformaron previamente en arcoseno para su análisis estadístico.

Tabla 2. Efecto de los extractos de rizomas de SA sobre el peso seco total (PST), área foliar (AF) y la fotosíntesis neta (PN) en plantas de *Mentha x piperita* L. no inoculadas (NI) o inoculadas con *Glomus mosseae* (IM) y *Glomus intraradices* (IB1). Referencias: S0: 0 %; S1: 5 %; S2: 10 %; S3: 15 %.

Hongos micorrícicos	Extracto de Sorgo de Alepo	PST g·planta ⁻¹	AF cm ² ·planta ⁻¹	PN μmol CO ₂ ·m ⁻² ·s ⁻¹
NI	S0	1,87 b	295,18 c	11,30 c
	S1	1,71 b	309,33 c	11,30 c
	S2	0,70 a	113,67 b	7,55 b
	S3	0,61 a	67,75 a	3,55 a
	C.V. %	25,3	29,5	25,3
IM	S0	2,84 ef	412,00 de	11,45 c
	S1	3,17 g	451,50 e	11,63 c
	S2	2,62 def	418,80 de	11,96 c
	S3	2,25 c	310,20 c	10,43 c
	C.V. %	9,8	9,9	15,3
IB1	S0	3,21 g	436,67 de	14,93 d
	S1	2,94 fg	420,40 de	11,98 c
	S2	2,60 de	379,00 d	12,36 c
	S3	2,46 cd	406,00 de	12,26 c
	C.V. %	6,6	5,9	9,3
H		**	**	**
S		**	**	**
Interacción H x S		**	**	**

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas entre las medias (P < 0,05).

**Indican diferencias significativas entre las medias (P < 0,001).

3. Resultados y discusión

Los extractos de rizomas de sorgo de Alepo afectaron la micorrización de las plantas de menta piperita. El porcentaje de micorrización fue significativamente disminuído (P < 0,05) con S2 y S3, independientemente del inóculo utilizado. Del mismo modo, la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa disminuyó significativamente con S2 y S3

($P < 0,05$) (Tabla 1). Estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores que indican que la colonización de las raíces con HMA puede ser afectada en forma adversa por las sustancias aleloquímicas (Bajwa, 2005; Stinson *et al.*, 2006; Nasim, 2008; Javaid, 2008).

El crecimiento de las plantas fue afectado significativamente por los extractos de SA ($P < 0,001$) y por la inoculación con HMA ($P < 0,001$) existiendo significancia para la interacción micorización por extractos acuosos de sorgo de Alepo (HxS) ($P < 0,001$). Las plantas inoculadas superaron a las no inoculadas en todos los parámetros de crecimiento determinados y en todas las concentraciones de extracto de SA utilizadas.

En las plantas no inoculadas, el peso seco total disminuyó un 62 % en S2 y un 66 % en S3 respecto de S0. Mientras que en las inoculadas disminuyó un 8 % y 21 % en las IM y 19 % y 23 % en IB1 en S2 y S3, respectivamente, comparadas con S0 (Tabla 2).

La eficiencia de la colonización se demuestra a través de la dependencia micorrícica que relaciona la biomasa de las plantas micorrizadas respecto de las no micorrizadas, cultivadas en las mismas condiciones. Si bien la alta concentración de extracto de SA afectó la micorización, la DM fue elevada en todos los tratamientos. En este trabajo la DM fue significativamente mayor ($P < 0,05$) en S2 y S3 respecto de S0 y S1 en las plantas inoculadas tanto con IM y IB1 (Tabla 1). La DM fue de alrededor del 40 % para S0 y S1, y fue superior al 72 % para S2 y S3 independientemente del inóculo utilizado, lo que demuestra la favorable relación que se establece entre las plantas de menta y *G. mosseae* o *G. intraradices* (Tabla 1). Esto indicaría que la menta piperita es altamente dependiente de las micorizas en situaciones de estrés, en coincidencia con Ruscitti *et al.* (2011) quienes encontraron un aumento significativo en la DM de plantas de pimiento micorrizadas con las mismas especies de hongos, creciendo bajo estrés.

En las plantas no inoculadas, el área foliar disminuyó en forma significativa en S2 y S3 comparada con S0 ($P < 0,001$), mientras que en las inoculadas la disminución fue significativa sólo en IM S3 ($P < 0,001$) (Tabla 2). Se observó una interacción H x S significativa para el área foliar ($P < 0,001$). Estos resultados

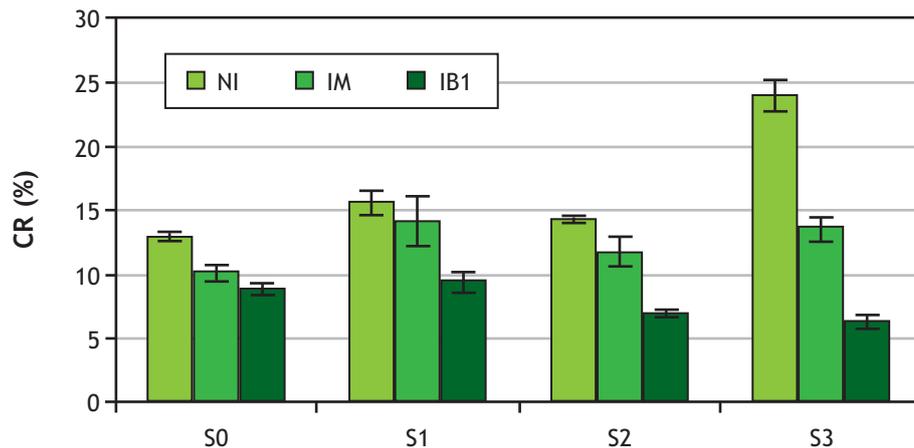


Figura 1. Efecto de los extractos de rizomas de sorgo de Alepo sobre la conductividad relativa (CR) de raíces de plantas de *Mentha x piperita* L. no inoculadas (NI) o inoculadas con *Glomus mosseae* (IM) y *Glomus intraradices* (IB1). Referencias: S0: 0 %; S1: 5 %; S2: 10 %; S3: 15 %.

coinciden con los encontrados en plantas de maíz (*Zea mays* L.) micorrizadas, las que presentaron mayor peso seco de tallos y raíces que las plantas no micorrizadas bajo los efectos del estrés alelopático de *Melia azedarach* L. (Bajwa, 2005). Similares resultados se observaron en trigo bajo condiciones de estrés alelopático causado por *Imperata cylindrica*, ya que los hongos *G. mosseae* y *G. fasciculatum* mejoraron el crecimiento en longitud de los tallos de la gramínea (Bajwa *et al.*, 2000). El mayor crecimiento de las plantas micorrizadas puede ser debido a que los HMA permiten soportar el estrés alelopático por un mejor estado de nutrición de las plantas (Javaid, 2007). Sin embargo se han encontrado evidencias de mecanismos específicos propios de los hongos arbusculares o inducidos por estos, que le dan a las plantas micorrizadas mayor tolerancia a elementos tóxicos ambientales (Ocampo, 1993). Así, se determinó que raíces de *Cicer arietinum* en contacto directo con los aleloquímicos presentes en extractos acuosos de hojas de *Syzygium comini* fueron más afectadas que la parte aérea, provocando una reducción de la concentración de N y P foliar, como consecuencia de una disminución en la absorción de dichos elementos (Bajwa *et al.*, 1999). El mismo autor concluyó que las micorizas arbusculares pueden producir y segregar al suelo compuestos químicos que neutralizan los efectos de los aleloquímicos responsables de la inhibición de la mitosis de las células radiculares y el crecimiento de la parte aérea. La alteración en el crecimiento de las raíces por parte de los aleloquímicos, conduciría a un menor desarrollo aéreo debido a una reducción en la absorción de nutrientes y la micorización podría, en parte, revertir esta situación.

El papel de los compuestos fenólicos sobre la simbiosis micorrícica no está claro, y su efecto parece es-

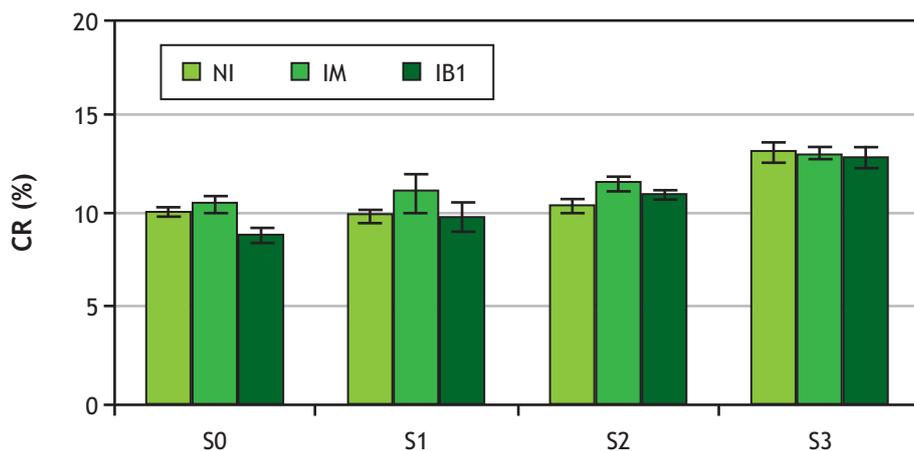


Figura 2. Efecto de los extractos de rizomas de sorgo de Alepo sobre la conductividad relativa (CR) de hojas de plantas de *Mentha x piperita* L. no inoculadas (NI) o inoculadas con *Glomus mosseae* (IM) y *Glomus intraradices* (IB1). Referencias: S0: 0 %; S1: 5 %; S2: 10 %; S3: 15 %.

tar relacionado con la concentración de los aleloquímicos en el sustrato, pudiendo estimular o inhibir la colonización (Leadir *et al.*, 1997).

Los aleloquímicos pueden alterar procesos fundamentales para el desarrollo de los cultivos, como la absorción de nutrientes y agua, fotosíntesis, respiración, actividad enzimática y hormonal (Sampietro, 2002). En nuestro trabajo, en las plantas NI, la fotosíntesis neta disminuyó significativamente en S2 y en S3 ($P < 0,001$) y fue mayor en las plantas inoculadas (Tabla 2). Según algunos autores, altas concentraciones de ácidos ferúlico, p-cumárico y cinámico provocan el cierre de los estomas y alteran la síntesis de pigmentos clorofilianos inhibiendo el proceso fotosintético (Rizvi *et al.*, 1992). Además, se ha determinado que la sorgoleona, una benzoquinona presente en los exudados radiculares de sorgo, es capaz de desacoplar el transporte de electrones en el fotosistema II (Einhellig, 1995). Los altos coeficientes de variación (mayores del 25 %) encontrados para los parámetros analizados (PST; AF y PN) en las plantas no inoculadas, pueden ser causados por la desuniformidad en el crecimiento de las plantas generado por las altas concentraciones (S2 y S3) del extracto ensayado.

Los factores ambientales adversos provocan la pérdida de la permeabilidad selectiva de las membranas celulares, alterando la integridad celular y la capacidad de retención de sustancias intracelulares (Beltrano *et al.*, 1999; Lukatkin, 2003). Los aleloquímicos pueden dañar las membranas celulares por una acción directa sobre sus constituyentes o como resultado del deterioro de alguna función metabólica fundamental para el mantenimiento de su funcionalidad (Rice, 1984). La conductividad relativa (CR) es una determinación que pone en evidencia la alteración de las membranas celu-

lares, a través de la pérdida de solutos al medio. Las plantas micorrizadas mostraron menor conductividad relativa de los tejidos de la raíz en todos los tratamientos comparadas con las NI ($P < 0,001$). El menor daño se observó en las plantas inoculadas con *G. intraradices* para todos los tratamientos. Los mayores valores de CR se observaron en S3, en las plantas NI (Figura 1). Se encontró una interacción significativa entre H x S ($P < 0,001$).

En las hojas, el daño de las membranas celulares aumentó significativamente so-

lo en S3 tanto en las NI como en las inoculadas en relación a S0 ($P < 0,001$). Entre los tratamientos de inoculación las diferencias no fueron significativas ($P < 0,060$). Los valores de CR de IB1 fueron los más bajos para todos los tratamientos comparados con NI y IM (Figura 2). Nuestros resultados muestran que bajo condiciones de estrés alelopático la simbiosis con hongos micorrízicos protegió la integridad de las membranas. Similares resultados se encontraron trabajando con plantas de maíz bajo condiciones de estrés por salinidad (Feng *et al.*, 2002) y en trigo, bajo condiciones de estrés hídrico (Beltrano & Ronco, 2008).

4. Conclusiones

- Altas concentraciones de extracto acuoso de sorgo de Alepo afectaron la inoculación de plantas de *Mentha x piperita* con hongos micorrízicos *G. intraradices* y *G. mosseae* y disminuyeron la viabilidad de las estructuras fúngicas.

- Las raíces de las plantas inoculadas mostraron daño significativo de las membranas celulares por efecto de los extractos de sorgo de Alepo solo en altas concentraciones.

- La inoculación con hongos micorrízicos moderó los efectos adversos causados por las altas concentraciones de extractos acuosos de sorgo de Alepo. Las plantas micorrizadas mostraron mayor peso seco, área foliar y fotosíntesis neta.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen al Ing. Agr. Jorge Ringuelet

por la provisión de plántulas de menta piperita. A O. Peluso y L. Wanhan (CONICET) por su colaboración en las tareas de laboratorio. Este trabajo se realizó con subsidios de la CICBA y de la UNLP.

6. Bibliografía

- Acciaresi, H. & Asenjo, C. 2003. Efecto alelopático de *Sorghum halepense* (L.) Pers. sobre el crecimiento de la plántula y la biomasa aérea y radical de *Triticum aestivum* (L.). *Ecología Austral* 13: 49-61.
- Arango, M.C.; Ruscitti, M.; Ronco, M. & Beltrano, J. 2006. Efecto de la micorrización con *Glomus mosseae* sobre la biomasa y contenido de aceites esenciales en *Mentha x piperita* L. Acta I Reunión de Biotecnología Aplicada a Plantas Medicinales y Aromáticas. Sección Temática (6): Productos naturales. Córdoba. p.122-123.
- Azcon-Aguilar, C. & Barea, J.M. 1997. Applying biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae* 68:1-24.
- Bajwa, R.; Javaid, A. & Haneef, B. 1999. EM and VAM Technology in Pakistan V: Response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to co-inoculation of effective microorganisms (EM) and VA mycorrhiza under allelopathic stress. *Pakistan Journal of Botany* 31:387-396.
- Bajwa, R.; Afzal, B. & Javaid, A. 2000. Allelopathy and VA Mycorrhiza VI: Comparative effectiveness of *Glomus mosseae* and *G. fasciculatum* in improving crop growth and yield in wheat (*Triticum aestivum* L.) allelopathic stress. *Pakistan Journal of Biological Science* 3:485-487.
- Bajwa, R. 2005. Effects of arbuscular mycorrhizae (AM) and effective microorganisms (EM) on various plants under allelopathic stress. *Allelopathy journal* 16:261-272.
- Beltrano, J. & Montaldi, E.R. 1980. Acción alelopática de los residuos del Pasto Johnson (*Sorghum halepense*) sobre el crecimiento de plántulas de maíz. *Comalfi* 7:29-35.
- Beltrano, J.; Ronco, M.G. & Montaldi, E.R. 1999. Drought stress syndrome in wheat is provoked by ethylene evolution imbalance and reversed by rewatering, aminoethoxyvinylglycine or sodium benzoate. *Journal of Plant Growth Regulation* 18:59-64.
- Beltrano, J. & Ronco, M.G. 2008. Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: effect on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 20:29-37.
- Blum, U. 1998. Effects of microbial utilization of phenolic acids and their phenolic acids breakdown products on allelopathic interactions. *Journal of Chemical Ecology* 24:685-708.
- Cabello, M.; Irrazabal, G.; Bucsinzky, A.M.; Saparrat, M. & Schalamuk, S. 2005. Effect of an arbuscular-mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. *Journal of Basic Microbiology, Weinheim* 45:182-189.
- Calabrese, E.J. & Baldwin, I.T. 2003. Hormesis: The Dose-Response Revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 43:175-197.
- Dayan, F.E. 2006. Factors modulating the levels of the allelochemical sorgoleone in *Sorghum bicolor*. *Planta* 224:339-346.
- Einhelling, F.A. & Souza, I.F. 1992. Phytotoxicity of sorgoleone formed in grain sorghum root exudates. *Journal of Chemical Ecology* 18:1-11.
- Einhellig, F.A. 1995. Allelopathy: Current Status and Future Goals. In: Inderjit, K.M.M. Dakshini; F.A. Einhelling (eds.), *Allelopathy: Organisms, Processes, and Application*. American Chemical Society, Washington D.C. 582: 96-116.
- Einhelling, F.A. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal* 88: 886-893.
- Feng, K.; Zhou, X.H.; Oohashi, T.; Morgelin, M.; Lustig, A.; Hirakawa, S.; Ninomiya, Y.; Engel, J.; Rauch, U. & Fassler, R. 2002. All four members of the Ten-m/Odz family of transmembrane proteins form dimers. *Journal of Biological Chemistry* 277:26128-26135.
- Freitas, M.S.M.; Martins, M.A. & Vieira, I.J.C. 2004. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 39:887-894.
- Gupta, M.L.; Prasad, A.; Ram, M. & Kumar, S. 2002. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of mentol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Biore-source Technology* 81:77-79.
- Horowitz, M. 1973. Spatial Growth of *Sorghum halepense*. *Weed Research* 13:200-208.
- Javaid, A. & Bajwa, R. 1999. Allelopathy and VA mycorrhiza. IV: Tolerance to allelopathy by VA mycorrhiza in maize. *Pakistan Journal of Phyto-*

- pathology 11: 70-73.
- Javaid, A. & Anjum, T. 2006. Control of *Parthenium hysterophorus* L. by aqueous extracts of allelopathic grasses. *Pakistan Journal of Botany* 38: 139-145.
- Javaid, A. 2007. Allelopathy interactions in mycorrhizal associations. *Allelopathy Journal* 20:29-42.
- Javaid, A. 2008. Allelopathy in mycorrhizal symbiosis in the Poaceae family. *Allelopathy Journal* 21: 207-218.
- Leadir, L.; Fries, M.; Pacovsky, R.S.; Safir, G.R & Siqueira, J.O. 1997. Plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal colonization affected by exogenously applied phenolic compounds. *Journal of Chemical Ecology* 23:1755-1767.
- Lukatkin, A.S. 2003. Contribution of oxidative stress to the development of cold induced damage to leaves of chilling-sensitive plants: 3. Injury of cell membrane by chilling temperatures. *Russian Journal of Plant Physiology* 50:243-246.
- Lutts, S.; Kinet, J.M. & Bouharmont, J. 1996. Effects of various salts and of mannitol on ion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) callus cultures. *Journal of Plant Physiology* 149: 186-195.
- Nasim, G. 2008. Influence of rice allelopathy on sporocarp formation by *Glomus monosporum* in leaf sheath bases of wheat. *Allelopathy Journal* 22: 403-408.
- Ocampo, J.A. 1993. Influence of pesticides on VA mycorrhizal. In: *Pesticide-plant pathogen interactions in crop production: beneficial and deleterious effects*, CRC Press, Boca Raton, FL. p.214-226. (Altman, J. ed).
- Phillips, J.M. & Hayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-163.
- Putnam, A.R. & Weston, L.A. 1986. Adverse impacts of allelopathy in agricultural systems. pp 43-56. In *The Science of Allelopathy*, eds. A.R. Putnam and C.S. Tang. John Wiley and Sons, New York. (A.R. Putnam & Tang, C.S. eds).
- Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2 ed. Academic Press. New York. p. 422.
- Rizvi, S.J.S.; Haque, H.; Singh, V.K. & Rizvi, V. 1992. A discipline called allelopathy. In: *Allelopathy: Basic and applied aspects*. Chapman & Hall, Londres. pp.1-10. (Rizvi, S.J.S. & Rizvi, V. eds).
- Rosales Robles, E.; Chandler, J.M.; Senseman, S.A. & Prosteko, E.P. 1999. Integrated johnsongrass (*Sorghum halepense*) management in field corn (*Zea mays*) reduces rates of nicosulfuron and cultivation. *Weed Technology* 13:367-373.
- Ruscitti, M.; Arango, M.; Ronco, M. & Beltrano, J. 2011. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) *Brazilian Journal of Plant Physiology* 23: 15-25.
- Sampietro, D.A. 2002. Alelopatía: Concepto, características, metodología de estudio e importancia. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. (Consultado noviembre 2010) <http://fai.unne.edu.ar/biologia/alelopatia/alelopatia.htm>
- Sene, M.; Gallet, C. & Dore, T. 2001. Phenolic compounds in a *Sahelian sorghum* (*Sorghum bicolor*) genotype and associated soils. *Journal of Chemical Ecology* 27:81-92.
- Setyowati, N. & Simaramata, M. 1999. HPLC identification of allelopathic compounds from *Lantana camara*. *Journal Agrotropika* 4:37-41.
- Smith, S.E. & Gianinazzi-Pearson, V. 1990. Phosphate uptake and arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L.: effects of photon irradiance and phosphate nutrition. *Australian Journal of Plant Physiology* 17:177-188.
- Smith, S.E. & Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd ed. Academic Press, San Diego CA, 605 pp.
- Stinson, K.A.; Campbell, S.A.; Powell, J.R.; Wolfe, B.E.; Callaway, R.M.; Thelen, G.C.; Hallett, S.G.; Pratti, D. & Klironomos, J.N. 2006. Invasive plant suppresses the growth of native tree seedlings by disrupting below ground mutualisms. *Public Library of Science Biology* 4 (5): 0727-0731.
- Trouvelot, A.; Kough, J. & Gianinazzi-Pearson, V. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: *Mycorrhizae: Physiological and Genetical Aspects*. INRA-Press, Dijon, France. p.217-221. (Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. eds).
- Yamane, A.; Nishimura, H. & Mizutani, J. 1992. Allelopathy of yellow field cress (*Rorippa sylvestris*): Identification and characterization of phytotoxic constituents. *Journal of Chemical Ecology* 18: 683-691.