

Evaluación de la actividad alelopática de *Campomanesia lineatifolia* sobre dos especies de malezas: *Rumex crispus* y *Amaranthus hybridus* en la etapa de germinación

Laura Maestre Rodríguez

Director: (c)PhD. Edgar Alfonso Palacios Ortega

Codirector: PhD. Helber Enrique Balaguera López

19 Mayo 2022

Resumen: *Campomanesia lineatifolia* conocida comúnmente como “Chamba” o “Champa” es una especie de árbol frutal de la Amazonía agrupada dentro de la familia Myrtaceae, la cual es reconocida por tener gran cantidad de metabolitos secundarios, los cuales actúan como sustancias alelopáticas frente a otras especies de plantas. Por otro lado, *Rumex crispus* (Polygonaceae) y *Amaranthus hybridus* (Amaranthaceae) son dos especies de malezas conocidas por ser de rápido crecimiento y un problema para diversos cultivos y pastizales. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad alelopática de *C. lineatifolia* sobre *R. crispus* y *A. hybridus* en la etapa de germinación, se utilizaron cuatro concentraciones: 0%, 3%, 6% y 9 % p/v en modalidad de una aplicación y varias aplicaciones. Se evaluó la VMG (velocidad media de germinación), TMG (tiempo medio de germinación), PG (porcentaje de germinación), viabilidad, comportamiento de germinación y velocidad de germinación. *R. crispus* presentó un comportamiento logístico en el proceso de germinación, a pesar de que se presentó un retraso en la germinación con la aplicación de las concentraciones, mientras que *A. hybridus* una germinación escalonada durante todo el experimento. Se evidenció que con el experimento de una aplicación fue suficiente para reducir el porcentaje de germinación de ambas especies, donde se inhibió la germinación de *R. crispus* en un 38,5% y de *A. hybridus* 52%, sin embargo, no fue tan eficiente como realizando aplicaciones constantes ya que se obtuvo una reducción de 76,2% y 58,34% respectivamente; también se observó un retraso en la germinación, lo cual produjo cambios en la velocidad de germinación a lo largo del experimento. Con una aplicación única del 9% se pudo reducir la viabilidad, aumentando la cantidad de semillas no viables de *R. crispus* en un 40,53%, mientras que en *A. hybridus* hubo una reducción en la viabilidad de por lo menos un 70,8%. Por lo cual, se puede concluir que el extracto de *C. lineatifolia* tiene efecto alelopático porque inhibe el proceso de germinación de las especies evaluadas.

Keywords: *Campomanesia lineatifolia*, *Rumex crispus*, *Amaranthus hybridus*, extracto hidroalcohólico, germinación, inhibición

1. Introduction

Rumex crispus es una especie herbácea perteneciente a la familia Polygonaceae y tiene una amplia distribución; se le conoce además como maleza problemática en pastizales y tierras cultivables en el mundo, siendo principalmente colonizadora en áreas perturbadas [1]. *Amaranthus hybridus*, familia Amaranthaceae, es una hierba anual [2], de rápido crecimiento y conduce a la reducción del rendimiento de importantes cultivos en el mundo porque tiene actividad alelopática, tiende a competir por luz y es hospedero de insectos considerados plagas [3]. Además, presenta una gran capacidad de desarrollar resistencia

a herbicidas, convirtiéndose en uno de los objetivos principales de los manejos de malezas [4].

La interacción entre las malezas y los cultivos se genera a través de la síntesis de diversas sustancias químicas, conocidas como compuestos alelopáticos, que son liberados al medio y pueden inhibir o estimular la germinación y el desarrollo de una serie de malezas y/o cultivos [1]. En la mayoría de los casos sus efectos son inhibitorios, dependiendo del nivel de fitotoxicidad y la concentración de los compuestos secretados, condiciones ambientales y la susceptibilidad del cultivo según la etapa de su ciclo de vida puede generar una germinación y emergencia tardía, o la muerte del embrión [5]. Los compuestos aleloquímicos están agrupados dentro de tres clases: fenoles, terpenoides y compuestos nitrogenados [6] y se pueden encontrar en hojas, raíces, flores, frutos y/o semillas [5]. Estos compuestos se pueden extraer y utilizar como bioherbicidas en sistemas agrícolas, convirtiéndose en una herramienta que permite el manejo sustentable de malezas [7], porque mantiene el balance en el ecosistema al reducir el uso de herbicidas químicos [8; 9]. Estos herbicidas químicos generan resistencia en las plantas, afectan el medio ambiente y la salud humana [10; 11; 12;13].

Campomanesia lineatifolia conocida comúnmente como “chamba” o “champa” es una especie de árbol frutal de la Amazonía agrupada dentro de la familia Myrtaceae [14], su fruto tiene de 6 a 8 semillas de 1 cm de diámetro aproximadamente, las cuales poseen un alto y diverso contenido de metabolitos secundarios [15]. En un estudio realizado por Muñoz et al. (2020) se extrajeron de esta especie compuestos fenólicos con actividad antioxidante, y se concluyó que tiene potencial como fuente de sustancias bioactivas. Adicionalmente, Bonilla et al. (2005) Encontraron que las semillas de *C. lineatifolia* tienen compuestos similares a las β -tricetonas, que se caracterizan por la presencia de varios grupos metilo, un anillo flavonoide o chalcon, lo que la convierte en una clase relativamente rara de metabolitos secundarios. Esos compuestos son conocidos por tener actividad antimicrobiana [16;17]. Algunas plantas tienen compuestos biológicamente activos, cuyos extractos crudos, metabólicos y alelopáticos inhiben la germinación de las semillas de malezas y afectan el crecimiento de las plantas causando necrosis o clorosis [9]. Recientemente, se encontró un efecto alelopático en el extracto de *C. lineatifolia* sobre la germinación y fisiología de *Taraxacum officinale* [18],

y en la germinación de *Sonchus oleraceus* en concentraciones de 3 a 9% del extracto etanólico [20]. En estos estudios se plantea que este extracto puede tener un gran potencial para ser usado en agricultura como bioherbicida. Sin embargo, se desconocen todavía muchos aspectos de su modo de acción. Por lo cual, el objetivo de este estudio fue caracterizar el extracto de semillas de *Campomanesia lineatifolia* y evaluar la actividad alelopática sobre la germinación de *Rumex crispus* y *Amaranthus hybridus* en condiciones de laboratorio.

2. Materials and Methods

2.1 Obtención de semillas

Las semillas de la Champa (*Campomanesia lineatifolia*) se obtuvieron a partir de frutos cultivados en el municipio de Miraflores en Boyacá, Colombia; mientras que las muestras vegetales de las malezas *R. crispus* y *A. hybridus* se recolectaron en el municipio de Paipa, Boyacá, Colombia. Por medio de un estereoscopio se extrajeron las semillas de las muestras vegetales, se dejaron secar y se almacenaron en bolsas de papel por un periodo de 30 días.

2.2. Preparación extracto hidroalcohólico para las pruebas de germinación

Semillas secas de champa se trituraron y se distribuyeron equitativamente en recipientes de vidrio de 1000 ml sometidos a oscuridad con etanol al 96% por siete días agitando constantemente. Luego, se filtró la solución heterogénea con un papel de filtro de grado 292 sartorius stedim, y el restante se sirvió en un balon de 1000 ml dentro del rota evaporador Heidolph HS digital, donde se destiló la solución hidroalcohólica en un rango

de temperatura de 58-68°C y presión de 350 mm de Hg. La solución resultante se dejó secando a temperatura ambiente en un recipiente de vidrio oscuro con entradas de aire para retirar excesos de etanol y obtener una textura pastosa y homogénea.

Para conseguir las concentraciones al 3%, 6% y 9% necesarias para los experimentos, se utilizó la relación en porcentaje entre el peso del soluto y el volumen del solvente, tomando 15 g, 30 g, y 45 g del extracto respectivamente, y agitando hasta disolver cada porción en 500 ml de agua destilada.

2.2.1. Determinación de compuestos fenólicos en las semillas de *C. lineatifolia*

El análisis de los compuestos presentes en el extracto de semillas de *Campomanesia lineatifolia*, se realizó por cromatografía líquida de ultra-alta eficiencia (UHPLC), usando un cromatógrafo Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.), la interfaz del LC-MS fue la electronebulización (ESI) y el espectrómetro de masas fue de alta resolución con detector de corrientes de iones Orbitrap. La separación uso una columna Hypersil GOLD aQ (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.; 100 x 2.1 mm, 1.9 µm de tamaño de partícula) a 30° C. La fase móvil fue A: una solución acuosa (0,2% de formiato de amonio) y B: acetonitrilo (0,2% de formiato de amonio). La condición inicial de gradiente fue de 100% A, cambiando linealmente hasta 100% B (8 min); se conservó durante 4 min; el retorno a las condiciones iniciales en 1 min; el tiempo total de corrida fue de 13 min, con 3 min para post-corrida. El espectrómetro de masas Orbitrap (Exactive Plus, Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.), conectado por la interfaz de electronebulización (HESI), operada en modo positivo con un voltaje de capilar de 4,5 kV. Se usó nitrógeno como gas secante. Los espectros de masas se adquirieron en el rango de masas m/z 60-900. La identificación de los compuestos se ejecutó a través del modo de adquisición full scan y extracción de iones (EIC), medición de masas exactas (precisión de Δppm < 0,001) y su correspondiente comparación con compuestos certificados estándar.

2.3. Diseño experimental y tratamientos

En las pruebas de germinación se realizó un diseño completamente al azar para cada especie y experimento. En todos los casos se evaluaron cuatro tratamientos y cuatro repeticiones, los cuales correspondieron a las concentraciones de 0%, 3%, 6% y 9% p/v del extracto hidroalcohólico, para un total de 16 unidades experimentales por especie. Cada unidad experimental constó de una caja Petri con 100 semillas sobre papel absorbente, para un total de 2800 semillas por especie. Para cada especie se realizaron dos experimentos independientes en donde variaba la cantidad de aplicaciones a las semillas, uno con una única aplicación del extracto al inicio del experimento, y el otro experimento con aplicación dos veces por semana. Los experimentos tuvieron una duración de 34 días para ambas especies.

Para el caso del control, solamente se mantenía húmedo el papel absorbente, realizando aplicaciones constantes con agua destilada según el método de Martínez et al. (2022) y Cabeza-Cepeda et al. (2021). Las cajas Petri fueron mantenidas en condiciones de fotoperiodo natural de 12 h, temperatura promedio de 18 °C. Condiciones favorables para la germinación de las especies evaluadas.

2.4. Variables

Las lecturas de germinación y el tiempo en que esto ocurrió se registraron cada dos días desde la germinación de la primera semilla y hasta obtener una germinación constante. Se tomó como germinación aquella semilla con una radícula visible mayor a 2mm de acuerdo con Niño-Hernández et al. (2020). Luego se calculó el porcentaje de germinación (PG), la velocidad media de germinación (VMG) y el tiempo medio de germinación (TMG) de acuerdo con las fórmulas de la Tabla 1.

Variable	Fórmula
Porcentaje de germinación PG (%)	$PG = \frac{\text{No. semillas germinadas}}{\text{No. semillas sembradas}} \times 100$

Velocidad media de germinación VMG (semillas germinadas/día)	$VMG = \frac{P1}{T1} + \frac{P2}{T2} + \frac{Pn}{Tn}$
Tiempo medio de germinación TMG (días)	$TMG = \left(\frac{x1}{d1}\right) + \left(\frac{x2}{d2}\right) + \left(\frac{xn}{dN}\right) / Xn$

Tabla 1. Fórmulas utilizadas para calcular el Porcentaje de germinación PG, Velocidad media de germinación VMG y el Tiempo medio de germinación TMG. Tomado de: VanVolkenburg et al. (2020) y Niño-Hernández et al. (2020). *P: número de semillas germinadas, T: tiempo de germinación, x1 y x2: semillas germinadas en el día 1 y 2. d1 y d2: días después de siembra. Xn: número de semillas germinadas hasta el último día

2.4. Viabilidad de semillas (%)

Luego de cuatro semanas de haber iniciado el experimento de germinación de las dos especies de malezas, se realizó la prueba de Tetrazolium para determinar la viabilidad de aquellas semillas que no germinaron. Para esto, se preparó una solución de buffer fosfato diluyendo 0,6 g de KH_2PO_4 y 0,7 g de K_2HPO_4 en 100 ml, y se añadió 1 g de 2,3,5-Triphenyltetrazolium-chlorid. Mediante observación a través de un estereoscopio se realizó un corte longitudinal a cada semilla con una cuchilla Minora® y se dispusieron en una caja Petri de vidrio de 60x 15 mm para ser embebidas en la solución de tetrazolio mencionada, se incubaron a $35^\circ C \pm 2^\circ C$ por 24h modificando el método de Paraiso et al. (2019). Luego de esto, se observaron las semillas en el estereoscopio para determinar el grado de tinción del embrión y los cotiledones, debido a que según Elías et al. (2022) las familias Amaranthaceae y Polygonaceae tienen un embrión de tipo periférico, donde éste rodea el área interna del tejido de almacenamiento, el cual está compuesto por tejido muerto y no se tiñe con la solución de Tetrazolium.

La interpretación de la viabilidad de *A. hybridus* se realizó mediante las escalas definidas por Niño-Hernández et al. (2020) mientras que para determinar las de *R. crispus* se dispusieron 10 semillas en imbibición por 8 horas, para posteriormente colocar cinco semillas bajo los rayos UV de microondas por 1 minuto, y junto con las otras cinco se sometieron a la solución buffer de Tetrazolium, teniendo así un control negativo y positivo respectivamente, y poder identificar cómo debía teñirse la semilla con la solución.

Se utilizaron tres categorías: 1) semilla viable (figura 1A y 2B) cuya tinción es de un rojo o rosado vivo homogéneo, 2) dudosa (figura 1B y 2B), el embrión tiñe de un rosa pálido o únicamente ciertas zonas de éste, y por último 3) no viable (figura 1C y 1D), en donde no hubo tinción del embrión. Esto permite diferenciar si la semilla no germinó porque se encontraba en estado de latencia o simplemente el embrión no está vivo.

2.6. Análisis estadístico

En el programa Rstudio v xx se realizó el ajuste a un modelo logístico para determinar el comportamiento de la germinación (%) en función del tiempo, la primera derivada del modelo fue considerada para calcular el comportamiento de la velocidad de germinación, se siguió la metodología propuesta por Carranza et al. (2009). En el programa SPSS v 19 se realizaron pruebas de normalidad (Test de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Test de Levene), luego se llevó a cabo ANOVA y prueba de rango múltiple de Tukey ($P < 0.05$). Las variables que no cumplieron los supuestos fueron transformadas mediante la función raíz cuadrada.

3. Resultados

3.1. Extracto hidroalcohólico de *Campomanesia lineatifolia*

Se obtuvo en total 154,76 g de extracto de champa, con un rendimiento del 14,83 %. Se encontraron 20 compuestos fenólicos pertenecientes a los grupos de las catequinas, ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas principalmente. Los compuestos mayoritarios fueron en su orden Epigallocatequina galato (EGCG), Quercetina-3-glucósido, Epicatequina galato (ECG), Ácido ursólico, Epigallocatequina (EGC) y Ácido trans-cinámico (Tabla 2).

Compuesto	tr, min	Clasificación	Concentración mg kg-1
Cafeína	4,12	Metilxantinas	4,30
Teobromina	3,57		15,60
Catequina	3,96	Catequinas	5,47
Epicatequina (EC)	4,17		17,23
Epigallocatequina (EGC)	3,80		53,50
Epicatequina galato (ECG)	4,58		83,30
Epigallocatequina galato(EGCG)	4,21		165,40
Naringenina	5,87	Flavonoides	0,50
Apigenina	6,01		3,10
Kaempferol	6,08		3,20
Pinocembrina	6,75		4,30
Ácido <i>p</i> -cumárico	4,70		12,50
Quercetina	5,59		40,00
Acido Vanílico	4,23		45,60
Ácido <i>trans</i> -cinámico	5,79		49,10
Ácido ursólico	9,79		76,40
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	4,19		100,70
Kaempferol-3-glucosido.	4,84	Antocianinas	15,50
Cianidina	4,86		18,90
Quercetina-3-glucósido	4,66		138,40

Tabla 2. Compuestos determinados en las semillas de *Campomanesia lineatifolia*. Realizado por: Brigitte Liliana Moreno Medina (UPTC).

3.2. *Rumex crispus*

3.2.1 Comportamiento de la germinación

El comportamiento estimado de la germinación por el modelo logístico (Tabla 1) indicó que fue mayor en el control, en donde se observa un gran aumento desde los primeros días de siembra, hasta el día 28 que empezó a volverse constante y alcanzó un valor máximo de 60,92%; sin embargo, para el experimento de una sola aplicación (figura 3A), los valores arrojados por la concentración de 6% p/v fueron similares al control hasta el día 14 donde alcanza un valor máximo de 50,90% de germinación, pero teniendo en todo

el estudio una mayor germinación que la concentración de 3% p/v. Por otro lado, en el experimento de varias aplicaciones (figura 3C), los tres tratamientos fueron menores que el control, ya que, para el caso de 3% p/v, fue la que obtuvo una mayor germinación, pero aún así no alcanzó ni el 30%. Para ambos experimentos, tanto de una aplicación, como de varias, la concentración más alta, que fue 9% p/v tuvo la tasa de germinación más baja, sin embargo, en el primer experimento logra un ligero aumento a 25,13%, pero éste se mantiene constante, por lo cual, las semillas dejaron de germinar; para el caso del segundo experimento, la germinación alcanza su punto máximo (15,43%) el día 34 (Figura xx).

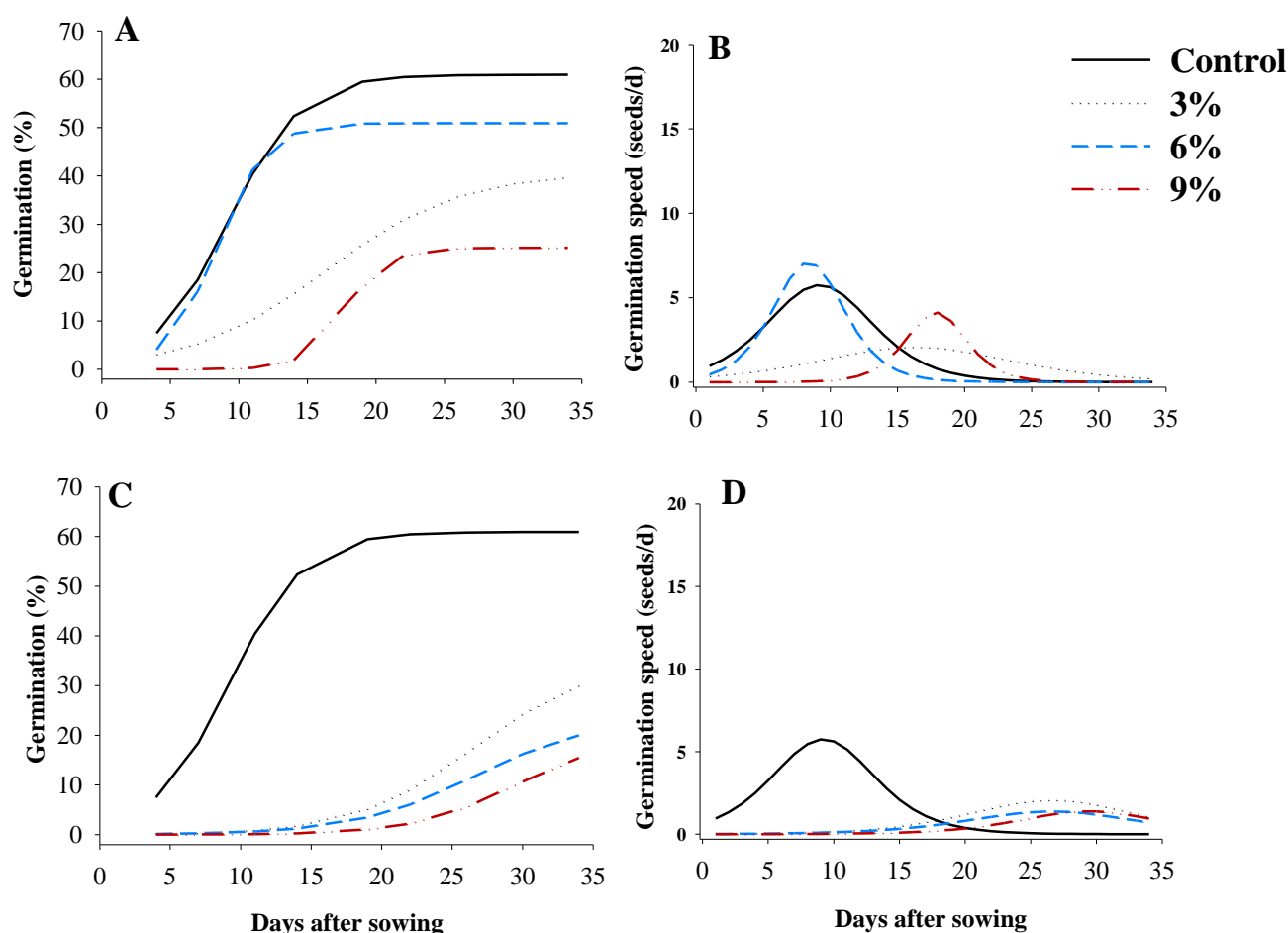


Figura 1. Tasa de germinación y velocidad de germinación de *Rumex crispus* con la aplicación del extracto de *Campomanesia lineatifolia*. A y B una aplicación. C y D- varias aplicaciones.

Experiment and treatments	Equations	RMSE
[Extracto] (% p/v) en <i>R. crispus</i> con una aplicación		
0	$Y = 60.9292 / 1 + e^{-0.37738 * (\text{days} - 9.204)}$	4.196159***
3	$Y = 40.768 / 1 + e^{-0.20368 * (\text{days} - 16.292212)}$	2.450885***
6	$Y = 50.90749 / 1 + e^{-0.55761 * (\text{days} - 8.39005)}$	3.065537***

221
222
223
224
225

9	$Y = 25.13136 / 1 + e^{-0.6555 * (\text{days} - 17.86986)}$	2.819907 **
[Extracto] (% p/v) en <i>R. crispus</i> con varias aplicaciones		
0	$Y = 60.9292 / 1 + e^{-0.37738 * (\text{days} - 9.204)}$	4.196159***
3	$Y = 35.232288 / 1 + e^{-0.233601 * (\text{days} - 26.568839)}$	0.7015684***
6	$Y = 23.484541 / 1 + e^{-0.233601 * (\text{days} - 26.568839)}$	1.334199***
9	$Y = 19.682445 / 1 + e^{-0.280367 * (\text{days} - 29.39876)}$	0.5451359 ***

Tabla 3. Ecuaciones del modelo logístico para el porcentaje de germinación (%) y la velocidad de germinación (semillas/día) de *Rumex crispus*. Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' RMSE: root mean square error.

3.2.2 Velocidad de germinación

En el control empezó a incrementarse desde los primeros días de siembra, alcanzando un valor máximo el día 10 con 5,6 semillas/día para luego disminuir hasta 0 semillas/día a partir del día 24 (Tabla 4). En el experimento de una aplicación, se presentó una mayor velocidad de germinación con 6% p/v, en donde se observa un aumento más tardío en comparación al control, sin embargo, alcanza su punto máximo antes, con 6,8 semillas/día el día 9 y disminuyendo hasta 0 semillas/día el día 18; contrariamente, la concentración de 3% p/v tuvo la velocidad de germinación más baja, con un máximo de 2,06 semillas/día, pero aún así todo el experimento hubo germinación, adicionalmente, se evidenció un retraso en la germinación de la semillas del tratamiento de 9% p/v, ya que su germinación empezó a aumentar el día 14, alcanzando su valor máximo el 18 con 4,11 semillas/día y tendiendo a 0 el día 25 (figura 1B).

Con varias aplicaciones del extracto, la velocidad de germinación máxima la alcanzó el control, y las de los tratamientos fue muy baja, ya que el 3% p/v presentó su punto máximo el día 27 con 2,05 semillas/día, 6% con 1,36 el mismo día y 9% p/v con 1,36 el día 30. En términos generales, se retrasó la germinación 20 días en comparación al control, ya que en este punto empezaron a germinar los tratamientos, mientras que en el control inició en los primeros días (figura 1D).

Aplicación del extracto	Concentración (p/v)	Germinación			Viabilidad (%)		
		PG (%)	VMG (semillas germinadas/días)	TMG (días)	Viable	Dudosa	No viable
Aplicación única	0%	65.0±5.5a	6.4±0.7a	10.5±1.1a	3.5±0.5a	11.2±4.0a	20.3±4.3b
	3%	41.3±3.1b	2.7±0.3b	9.7±1.6a	10.2±1.4a	18.5±3.1a	30.0±2.8ab
	6%	54.3±2.9ab	5.3±0.5a	8.2±0.7a	9.5±1.9a	8.0±2.3a	27.5±2.9ab
	9%	40.0±8.5b	1.7±0.3b	11.8±3.0a	10.8±3.5a	17.5±3.8a	37.5±5.7a
Significancia		*	*				*
Dos veces por semana	0%	65.0±5.4a	6.4±0.7a	10.5±1.1a	3.5±0.5b	11,2±4,090b	20.3±4.3a
	3%	30,0±2.5b	1.2±0.2b	9.9±0.6a	30.8±2.2a	14.0±2,323ab	25.3±4.1a
	6%	22.3±4.6b	0.9±0.2b	6.9±1.4a	21.3±5.7a	20.8±2,394ab	35.8±3.2a

	9%	15.5±4.6b	0.6±0.1b	5.6±1.8a	17.0 ±3.2ab	31.5 ±2,810a	36.0 ±3.6a
Significancia		*	*		*	*	

Tabla 4. Porcentaje de germinación (PG), Velocidad media de germinación (VMG), Tiempo medio de germinación (TMG), y viabilidad de *R. crispus* con las diferentes concentraciones del extracto de *Campomanesia lineatifolia*. PG: porcentaje de germinación. Números seguidos de ± indican error estandar. VMG: Velocidad media de germinación. TMG: Tiempo medio de germinación

3.2.3. Porcentaje de germinación

Como se puede observar en la tabla 4, en el experimento de una sola aplicación, en el porcentaje de germinación los tratamientos, especialmente 3% y 9 % se observan diferencias estadísticamente significativas comparadas con el control y p/v, en donde se observo una reducción en la germinación del 36,5% y 38,5% respectivamente.

En cuanto al experimento con varias aplicaciones, todos los tratamientos presentan diferencias estadísticamente significativas al ser comparadas con el control, con la concentración de 3%, el porcentaje de germinación se redujo en un 53,8% mientras que con la de 9% se obtuvo una reducción del 76,2%.

3.2.4. Velocidad media de germinación

La velocidad media de germinación en el experimento de una sola aplicación presento diferencias estadísticamente diferente de los tratamientos de 3% y 9% con unos valores de 2,665 y 1,729 ±0,310 semillas/día comparadas con el control que fue de 6.34 , por lo cual se definen como concentraciones óptimas para reducir la velocidad en la germinación, haciendo especial énfasis en 9% con un 88,5%. Sin embargo, la concentración de 6% no mostró diferencias al ser comparada con el control.

Con varias aplicaciones, hay diferencias entre el control y las concentraciones, en donde hubo una reducción de al menos 80,5% en la velocidad media de germinación con la concentración de 3%, con 1,238 ± 0,167 semillas/día (tabla 4).

3.2.5. Tiempo medio de germinación

El tiempo medio de germinación no presentó diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los extractos y el control en el experimento de una aplicación, ni en el de varias aplicaciones, por lo cual el extracto no tuvo efecto sobre esta variable (Tabla 4).

3.2.6. Viabilidad

En la Figura 2 se pueden evidenciar las tres escalas visuales definidas como determinantes en la viabilidad de las semillas de *R. crispus*; viable, dudosa y no viable según el grado de tinción generado por el Tetrazolium. Con una aplicación del extracto, las semillas viables y dudosas no mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los tratamientos y el control, mientras que para el experimento de una sola aplicación, en las no viables hay diferencias entre el control y la concentración 9 % p/v con 20,3 ±4,328 y 37,5 ±5,679 semillas respectivamente, en donde la concentración más alta presentó el mayor número de semillas no viables, aumentando la no viabilidad en un 40,5%. Con varias aplicaciones 3% y 6% p/v presentaron el mayor número de semillas viables, presentando diferencias significativas ($P < 0,05$) con el control y la concentración más alta; adicionalmente esta última concentración (9%) tuvo la mayor cantidad de semillas catalogadas como dudosas con 31,5 ±2,810 %, pero no hubo diferencias entre los tratamientos para las semillas no viables (Tabla 4).

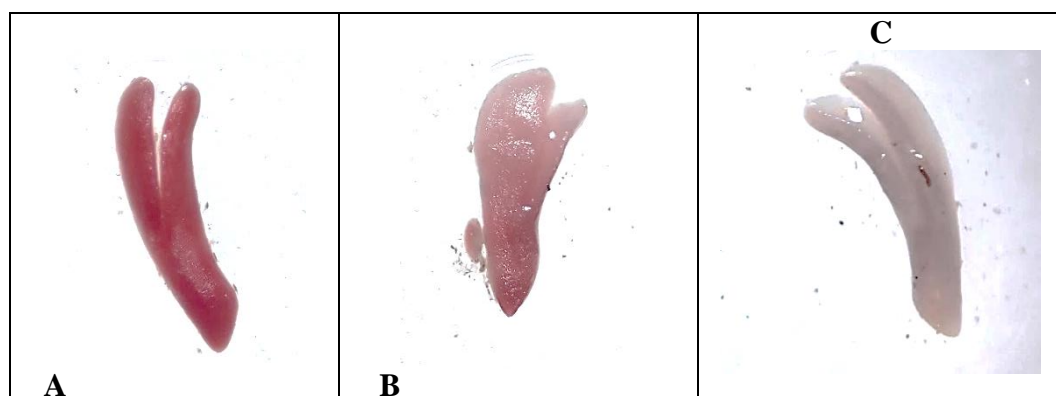


Figura 2. Escala visual para identificación de patrones topológicos de la prueba de viabilidad con Tetrazolium en *R. crispus*. A-Viable. B-Dudosa. C-No viable.

3.3 *Amaranthus hybridus*

3.3.1 Comportamiento de germinación

En el experimento de una aplicación, la concentración de 6% p/v empezó su germinación sobre el día 10, mientras que 3% p/v alrededor del día 19, sin embargo, para el día 34 convergen en el mismo punto con una germinación cercana con 49% y 50,5% respectivamente. El extracto de 9% p/v sólo alcanzó porcentaje de germinación máximo de 31,4% el día 34, mientras que en el control el comportamiento de la germinación desde un primer momento se mostró en aumento constante, hasta su máximo, que fue 60% en los dos experimentos (Figura 3A).

Con varias aplicaciones, en general hubo un menor porcentaje máximo de germinación, ya que el 3% p/v tuvo a penas un 36,4% e inició el día 10, 6% p/v se estancó en 28% a partir del día 26 iniciando su germinación el día 22, y por último, 9% p/v inició su germinación el 26 y su máximo fue de 25,2% (Figura 3C). Las ecuaciones de ajuste al modelo logístico se presentan en la tabla 5.

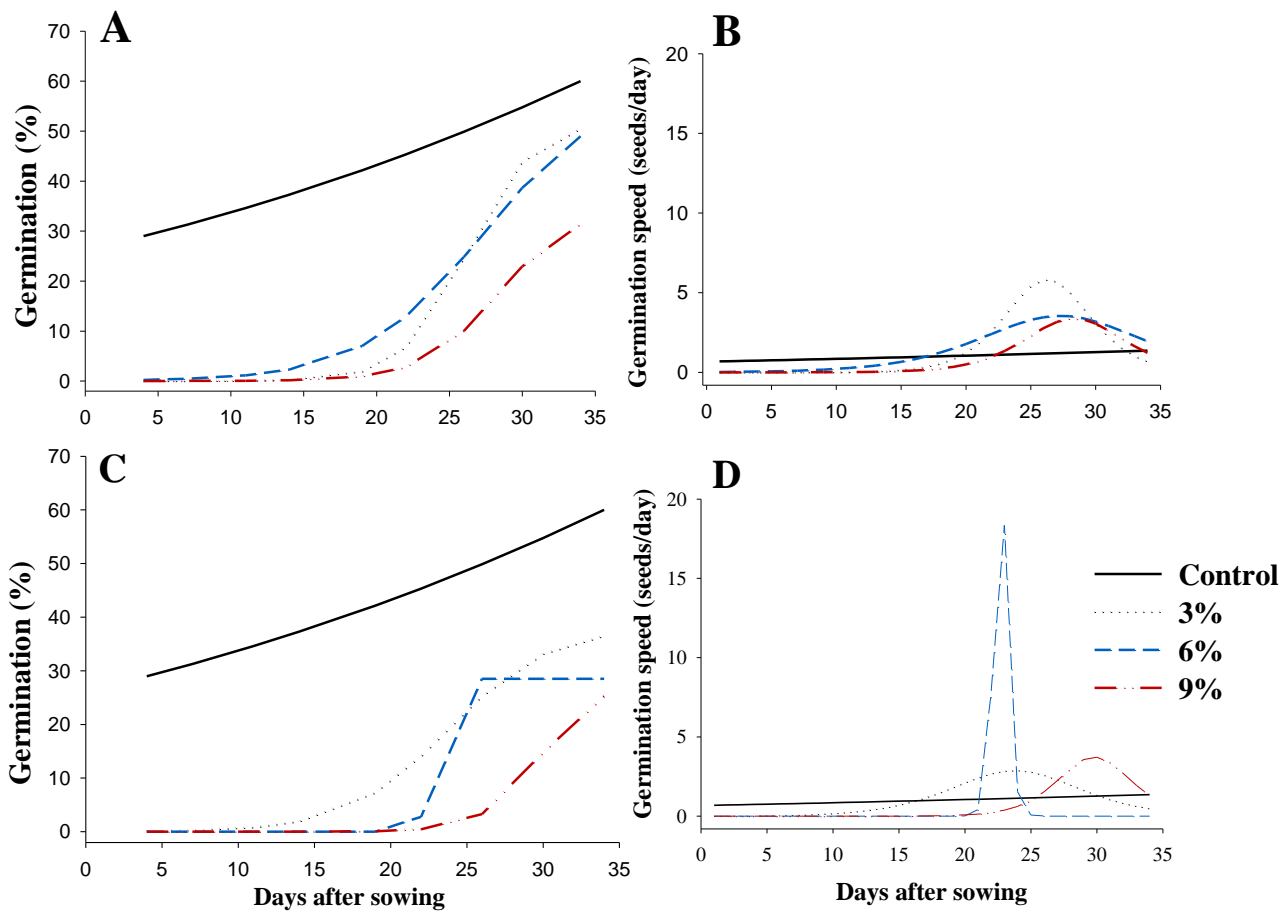


Figura 3. Tasa de germinación y velocidad de germinación de *Amaranthus hybridus* con la aplicación del extracto de *C. lineatifolia*. A y B una aplicación. C y D- varias aplicaciones.

306
307
308
309
310

Experiment and treatments	Equations	RMSE
[Extracto] (% p/v) en <i>A. hybridus</i> con una aplicación		
0	$Y = 301.6500275 / 1 + e^{-0.0282922 * (\text{days} - 83.2299953)}$	2.31339*
3	$Y = 51.978344 / 1 + e^{-0.450154 * (\text{days} - 26.234074)}$	1.004229***
6	$Y = 58.613766 / 1 + e^{-0.241481 * (\text{days} - 27.268214)}$	2.914969**
9	$Y = 34.88115 / 1 + e^{-0.387867 * (\text{days} - 28.324102)}$	1.278158***
[Extracto] (% p/v) en <i>A. hybridus</i> con varias aplicaciones		
0	$Y = 301.6500275 / 1 + e^{-0.0282922 * (\text{days} - 83.2299953)}$	2.31339*
3	$Y = 38.135591 / 1 + e^{-0.302764 * (\text{days} - 23.76513)}$	1.15966***
6	$Y = 28.5005 / 1 + e^{-3.1257 * (\text{days} - 22.7139)}$	4.537197**

9	$Y = 27.9165765 / 1 + e^{-0.5337944 * (\text{days} - 29.7880111)}$	0.04622359***
---	--	---------------

Tabla 5. Ecuaciones del modelo logístico para el porcentaje de germinación (%) y la velocidad de germinación (semillas/día) de *Amaranthus hybridus* con las diferentes concentraciones del extracto de *Campomanesia lineatifolia*. Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' RMSE: root mean square error.

3.3.2. Velocidad de germinación

Con una aplicación se evidenció que, luego del control, la concentración que empezó a aumentar su velocidad de germinación fue 6 % superando a 3% a partir del día 4 y 18 respectivamente; sin embargo, 3% alcanza una velocidad máxima de germinación mayor que todos los tratamientos el día 16 con 5,8 semillas/día, pero disminuye rápidamente (Figura 3B). Por el contrario, con varias aplicaciones, la concentración 6% alcanzó un máximo de velocidad de germinación el día 23 con 18,3 semillas/día, pero se redujo drásticamente, por otro lado, en 3% ésta empieza a aumentar a partir del día 10 hasta un máximo de 2,8 semillas/día el 24; finalmente 9% aumentó su germinación el día 23, sin embargo, su velocidad máxima fue el día 30 con 3,36 semillas/día (Figura 3D).

Aplicación del extracto	Concentración (p/v)	Germinación			Viabilidad (%)		
		PG (%)	VMG (semillas germinadas/días)	TMG (días)	Viable	Dudosa	No viable
Aplicación única	Control	60,5±6,5a	9,0±2,8a	11,2±3,3b	36,0 ±5,8a	1,3±0,5b	1,8±0,7c
	3%	50,0±1,8a	1,8±0,4b	18,8±0,7a	10,5±1,9b	24,8±2,2a	12,0±3,7bc
	6%	47,5±3,4a	2,1±0,4b	16,7±0,6ab	7,3±2,2b	19,0±3,7a	23,8±3,4ab
	9%	31,0±1,0b	1,1±0,1b	12,1±0,6ab	15,5±1,6b	25,8±0,8a	28,8±3,1a
Significancia		*	*	*	*	*	*
Dos veces por semana	Control	60,5±6,5a	9,028±2,853a	11,159±3,361a	36,0 ±5,817a	1,3±0,5b	1,8±0,7c
	3%	35,0±3,1b	1,485±0,150ab	12,389±1,480a	5,5±0,645b	25,5±0,7a	34,0±2,9b
	6%	27,0±0,9b	0,964±0,052bc	10,392±0,315a	6,5±0,645b	20,5±2,4a	46,0±2,1a
	9%	25,2±1,7b	0,821±0,057c	10,601±0,779a	5,8±0,854b	22,5±1,9a	46,5±2,8a
Significancia		*	*		*	*	*

Tabla 6. Porcentaje de germinación (PG), Velocidad media de germinación (VMG), Tiempo medio de germinación (TMG), y viabilidad de *A. hybridus* con las diferentes concentraciones del extracto de *Campomanesia lineatifolia*. *PG: Porcentaje de germinación. *VMG: Velocidad media de germinación. *TMG: Tiempo medio de germinación

3.3.3. Porcentaje de germinación

Como se puede observar en la tabla 6, en el experimento de una sola aplicación, en el porcentaje de germinación se observan diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el control y la concentración de 9 % con $65,0 \pm 5,492\%$ y $31,0 \pm 1,080\%$ respectivamente, lo cual indica que éste fue el único tratamiento con el que fue suficiente añadir una aplicación para reducir el porcentaje de germinación, sin embargo solamente se evidencia una reducción del 52%. En cuanto al de varias aplicaciones, hay diferencias entre el control y las

concentraciones, por lo cual, incluso con la concentración más baja (3% p/v), es posible reducir el porcentaje de germinación al 41,1% y con la más alta hubo una reducción del 58,34% (Tabla 6).

3.3.4. Velocidad media de germinación

Con una sola aplicación hubo una mayor velocidad media de germinación en el control, observándose valores más bajos pero estadísticamente iguales ($P < 0,05$) entre 3, 6 y 9% p/v. En el experimento con varias aplicaciones, se puede observar una reducción gradual a medida que se va aumentando la concentración del extracto (Tabla 6).

3.3.5. Tiempo medio de germinación

Hay diferencias significativas entre el tiempo medio de germinación del control y 3% p/v con una sola aplicación del extracto, siendo mayor con la concentración más baja; sin embargo, también tendió a ser baja con las demás concentraciones. Sin embargo, al aplicar varias veces el extracto, no se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las concentraciones aplicadas.

3.3.6. Viabilidad

En la figura 4 están representadas las tres escalas visuales determinadas según el grado de tinción de Tetrazolium: viable, dudosa y no viable. El porcentaje de semillas viables fue significativamente mayor en el control que mediante una sola aplicación del extracto en las tres concentraciones, donde se presentó una reducción en la viabilidad de por lo menos del 70,8% con 3% p/v, en cuanto a las que se clasificaron como dudosas, hubo una menor cantidad en el control que en los demás tratamientos, así como un aumento en el conteo de semillas no viables mediante se iba aumentando la concentración aplicada. Con varias aplicaciones las semillas viables tuvieron un comportamiento similar, siendo mayores las del control y logrando una reducción en la viabilidad de 84,7%; las dudosas fueron más bajas en el control que en los tratamientos, así como las no viables, en donde se fue reduciendo la viabilidad mediante se aumentaba la concentración del extracto (Tabla 6).

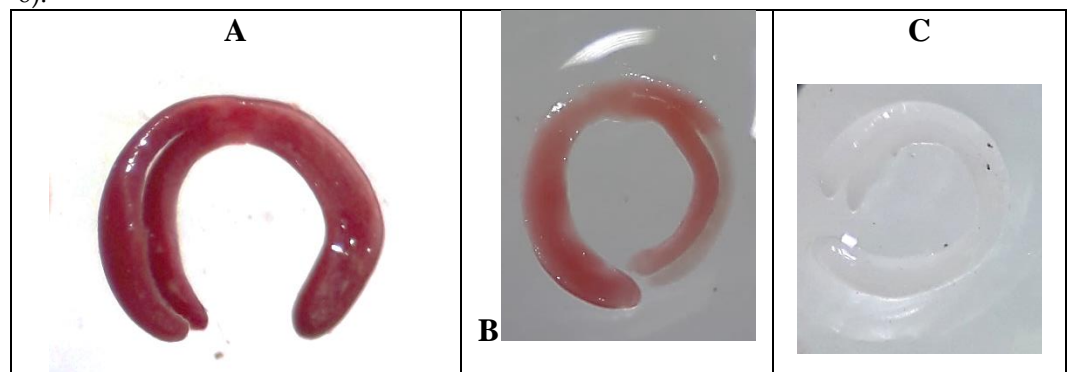


Figura 4. Escala visual para identificación de patrones topológicos de la prueba de viabilidad con Tetrazolium en *A. hybridus*. A-Viable. B-Dudosa. C-No viable.

4. Discusión

Para el caso de *Rumex crispus*, el control no presentó latencia, observándose un comportamiento logístico, en donde se va generando un aumento a partir de los primeros días de siembra hasta el punto máximo de germinación, sin embargo, se pudo observar que los tratamientos expuestos a las concentraciones tuvieron un retraso en el inicio de su germinación. Por otro lado, se logró inhibir la germinación hasta un 76,2% con la concentración más alta del extracto, y hubo bajo porcentaje de semillas en latencia debido a que el porcentaje de semillas viables estuvo alrededor del 10% en los tratamientos con el extracto,

siendo muy bajo; y según Stross (2021) semillas no latentes pueden experimentar reacciones bioquímicas que profundicen la latencia y generen una maduración tardía, ya que la dormancia fisiológica puede ser causada por la presencia de una molécula inhibitoria. De acuerdo con la caracterización que se realizó en las semillas de *C. lineatifolia*, se encontraron gran cantidad de compuestos fenólicos que tienen efectos directos sobre la germinación. Debido a que la germinación es un proceso modulado por hormonas como el ácido abscísico, giberelinas, auxinas, etileno, citoquininas y brasinoesteroides [20,21]; las fitotoxinas pueden afectar a las semillas inhibiendo o retrasando la movilización de reservas modificando las concentraciones de estas sustancias, un proceso que ocurre a etapas tempranas de la germinación y donde las semillas se proveen con ATP y productos de carbono requeridos para la biosíntesis de plántulas [26]. Específicamente, los niveles de fitohormonas como ácido giberélico y ácido abscísico pueden variar por el efecto de los compuestos fenólicos, que estimulan o evitan que las células de la aleurona produzcan enzimas hidrolíticas que participan en la descomposición de las reservas; estas dos hormonas actúan de manera antagonista durante la germinación, el segundo se acumula y juega un rol importante en la inducción y mantenimiento de la latencia, y la primera promueve el crecimiento [25].

En este estudio se pudo identificar que se retrasó la germinación de *Amaranthus hybridus* con la aplicación del extracto en las diferentes concentraciones y se inhibió hasta un 58,34% la germinación. Paralelamente, en la prueba de viabilidad realizada, se encontró que las semillas viables se eran significativamente menores con las concentraciones; por lo cual se puede determinar que el extracto está generando la muerte del embrión. [27] la latencia se origina debido a que aumenta la producción de ácido abscísico y se inhibe la absorción de agua por alteraciones en la permeabilidad de la membrana, y la finalización de ésta se relaciona con un aumento en los niveles de giberelinas, las cuales permiten que se codifiquen enzimas hidrolíticas para aprovechar las sustancias de almacenamiento. Los aminoácidos libres totales aumentan después de la germinación, resultado de la degradación de las proteínas por acción de proteasas y la síntesis de nuevas enzimas que participan en la liberación de los aminoácidos libres [28], sin embargo de acuerdo con El-Shora et al (2022), el aumento de ácidos fenólicos como el ácido vanílico, compuesto caracterizado en este estudio, reduce la incorporación de aminoácidos específicos en las proteínas, por lo cual se reduce la cantidad de proteínas presentes en las semillas. En un estudio comparativo entre *Amaranthus* germinado y crudo se evidenció el aumento en la cantidad de aminoácidos no esenciales como Glu, Ala, Ser y Asp en el germinado. El contenido total de aminoácidos libres en las semillas es determinado como un factor fisiológico del efecto de los herbicidas [30], debido a que si éstos se encuentran en grandes proporciones, indica una alta actividad de proteasas para el aprovechamiento de las reservas.

El extracto de *C. lineatifolia* generó una disminución en el porcentaje, velocidad y tiempo de germinación, así como en la viabilidad de las semillas de *R. crispus* y *A. hybridus*, debido a que las plantas que tienen composiciones fenólicas tienden a tener actividad fitotóxica hacia otros organismos [31] estudio realizado por Fan et al. (2020) donde identificaron y aislaron diversos aleloquímicos de *Polygonum cuspidatum* (Polygonaceae); se encontraron catequinas y epicatequinas, las cuales generaron una inhibición de la germinación de aproximadamente 40% cada una, y dichos compuestos fueron también hallados en las semillas de *C. lineatifolia*, por lo cual, es posible que estos compuestos hayan tenido influencia sobre las diferentes variables evaluadas. Adicionalmente, Pereira et al. (2017) reportaron que estos dos compuestos, más la quercetina extraída de *Cecropia pachystachya* generaron independientemente una reducción en la germinación de *Lepidium sativum* de 10,3%, 14,5% y 7,7%.

En *R. crispus* se generó una inhibición de la germinación de hasta 38,4% con una aplicación y 76,9% con varias aplicaciones, y en *Amaranthus hybridus* 48,73% y 58,4% respectivamente, mientras que Cabeza-Cepeda et al. (2021) y Martínez (2019) obtuvieron una

inhibición del 100% en la germinación de *Taraxacum officinale* (Asteraceae) y *Sonchus ole-* 426
raceus (Asteraceae) aplicando el extracto de *C. lineatifolia* en las mismas concentraciones. 427
 Los diferentes resultados obtenidos en este estudio, comparado con los dos anteriores 428
 pueden deberse a que los compuestos alelopáticos tienen especificidad sobre los aminoá- 429
 cidos a los que impiden su incorporación para la formación de proteínas, y estos aminoá- 430
 cidos tienden a ser diferentes según la especie en cuestión; sabiendo además que la resis- 431
 tencia a los herbicidas químicos tradicionales se debe a que algunas poblaciones desarro- 432
 llan la capacidad de sustituir los aminoácidos necesarios para este ensamblaje [28]. 433

5. Conclusiones 434

Con el experimento de una aplicación fue suficiente para reducir el porcentaje de germi- 435
 nación de ambas especies donde se inhibió la germinación de *R. crispus* en un 38,5% y de 436
A. hybridus un 52%, sin embargo, no fue tan eficiente como realizando aplicaciones cons- 437
 tantes ya que se obtuvo una reducción de 76,2% y 58,34% respectivamente. 438

Con una aplicación únicamente se pudo reducir la viabilidad de *R. crispus* con la concen- 439
 tración de 9%, aumentando la cantidad de semillas no viables en un 40,53%, mientras que 440
 en *A. hybridus* hubo una reducción en la viabilidad de por lo menos un 70,8%. 441

R. crispus presentó un comportamiento de germinación logístico, mientras que *A. hybridus* 442
 una germinación escalonada, presentando cambios en la velocidad de germinación a lo 443
 largo del experimento. 444

6. Agradecimientos 445

Quiero agradecerle a mi familia por apoyarme siempre, especialmente a mis padres por 446
 escucharme, amarme y comprenderme; a mi hermano Daniel, por ayudarme y acompa- 447
 ñarme en todo el proceso. Los amo mucho. 448

A mis compañeras de laboratorio, de carrera y unas de mis mejores amigas: Isabella 449
 Acosta y Nicolle Gaona, hicieron de este proceso una etapa inolvidable que recordaré por 450
 todo lo que reímos, cantamos e incluso lloramos. Así como Ana Lucía Payán, Angela Hur- 451
 tado, Gabriela Luna, Sebastián Ruiz, Luisa Tejada y Nicolás Cajamarca; muchas gracias 452
 por coincidir en esta carrera tan linda y poder compartir todo lo que vivimos juntos. 453

A la profesora Brigitte Moreno por los análisis de metabolitos en el extracto, así como al 454
 profesor William Andrade por su asesoría con el rotaevaporador. 455

También quiero agradecerle a mi director de tesis, el profesor Edgar Palacios, que más allá 456
 de su papel de director ha sido como un segundo padre y un apoyo muy grande en mi 457
 vida, del cual he aprendido en lo académico y personal; junto con mi codirector Helber 458
 Balaguera, gracias por haberme dado ese voto de confianza tan grande con este proyecto 459
 y haberme ayudado en todo momento, a pesar de mi intensidad jaja. Al profesor Juan 460
 Pablo Hernández y Federico Maldonado por apoyarme en todo el proceso de mi trabajo 461
 de grado, tanto en la parte logística como personal; volviendo el laboratorio mi lugar fa- 462
 vorito. 463

Referencias 465

- [1] Petrova T, Valcheva G, Velcheva, G (2015). A Case Study of Allelopathic Effect on Weeds in Wheat. *Ecologia Balka-* 466
nica. 467

- [2] Dellaferrera I, Cortés E, Panigo E, De Prado R, Christoffoleti P, & Perreta M. (2018). First report of *Amaranthus hybridus* with multiple resistance to 2, 4-D, dicamba, and glyphosate. *Agronomy*, 8(8), 140. 468
469
- [3] VanVolkenburg H, Guinel C, & Vasseur L. (2020). Impacts of smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) on cover crops in Southern Ontario. *Agronomy*, 10(4), 529. 470
471
- [4] García J, Palma-Bautista C, Vazquez-Garcia G, Rojano-Delgado M, Osuna D, Torra J, & De Prado R. (2020). Multiple mutations in the EPSPS and ALS genes of *Amaranthus hybridus* underlie resistance to glyphosate and ALS inhibitors. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. 472
473
474
- [5] Sardrood P, Goltapeh, M (2018). Weeds, Herbicides and Plant Disease Management. In *Sustainable Agriculture Reviews 31* (pp. 41-178). Springer, Cham. 475
476
- [6] Macías A, Mejías J, Molinillo M (2019). Recent advances in allelopathy for weed control: from knowledge to applications. *Pest management science*, 75(9), 2413-2436. 477
478
- [7] Arafat Y & Ali N. (2015). Allelopathic evaluation of selected plants extracts against broad and narrow leaves weeds and their associated crops. *Academia Journal of Agricultural Research*, 3(10), 226-234. 479
480
<https://doi.org/10.15413/ajar.2015.0147> 481
- [8] Nawaz A, Farooq M, Cheema S & Cheema Z. (2014). Role of allelopathy in weed management. In B. Chauhan, & G. Mahajan (Eds.), *Recent advances in weed management*. Springer, New York, NY. pp. 39-61. 482
483
- [9] Kaab S, Rebey I, Hanafi M, Hammi K, Smaoui A, Fauconnier L, De Clerck C, Jijakli M & Ksouri R. (2020). Screening of Tunisian plant extracts for herbicidal activity and formulation of a bioherbicide based on *Cynara cardunculus*. *South African Journal of Botany*, 128, 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.018> 484
485
486
- [10] Guglielmini A, Ghera C & Satorre E. (2007). Co-evolution of domesticated crops and associated weeds. *Ecología Austral*, 17(1), 167-178. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/ecologiaaustral/ecologiaaustral_v017_n01_p167.pdf 487
488
489
- [11] Vencill W, Nichols R, Webster T, Soters J, Mallory-Smith C, Burgos N, Johnson W & Mc-Clelland R. (2012). Herbicide resistant: toward and understanding of resistance development and the impact of herbicide-resistance crops. *Weed Science*, 60(SP1), 2-30. <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00206.1> 490
491
492
- [12] Menalled F. (2010). Consideraciones ecológicas para el desarrollo de programas de manejo integrado de malezas. *Agroecología*, 5, 73-78. <https://revistas.um.es/agroecologia/article/view/160581> 493
494
- [13] Böcker T, Möhring N & Finger R. (2019). Herbicide free agriculture? A bio-economic modelling application to Swiss wheat production. *Agricultural Systems*, 173, 378-392. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.03.001> 495
496
- [14] Muñoz C, Chavez W, Pabón L, Rendón R, Patricia-Chaparro, Otálvaro-Álvarez M (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 46, 38-46. 497
498
499
- [15] Álvarez-Herrera J, Galvis J, & Balaguera-López H. (2009). Determinación de cambios físicos y químicos durante la maduración de frutos de champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.). *Agronomía Colombiana*, 27(2), 253-259. 500
501
- [16] Bonilla A, Duque C, Garzón C, Takaishi Y, Yamaguchi K, Hara N & Fujimoto Y. (2005). Champanones, yellow pigments from the seeds of champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Phytochemistry* 66(14), 1736-1740. 502
503
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.025> 504
- [17] Osorio C, Alarcón M, Moreno C, Bonilla A, Barrios J, Garzón C & Duque, C. (2006). Characterization of odor-active volatiles in Champa (*Campomanesia lineatifolia* R. & P.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 509-516. <https://doi.org/10.1021/jf052098c> 505
506
507

- [18] Cabeza-Cepeda C, Balaguera-López & de Vega U. (2021). Alelopatía del extracto de *Campomanesia lineatifolia* sobre *Taraxacum officinale*. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 22(3). 508
509
- [19] Martínez C, J.Fonseca & H.H. Balaguera-López. (2022). The bioherbicidal activity of seed extract of *Campomanesia lineatifolia* on the weed *Sonchus oleraceus* L. *Agronomía Colombiana*. Manuscript accepted 510
511
- [20] Niño-Hernández J, Moreno F, Ruiz-Berrío D, Balaguera-López E & Magnitskiy S. (2020). Light, gibberellins and burial depth affect seed germination of *Amaranthus hybridus* L. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 23(2). 512
513
514
- [21] Paraiso A, Brandão S, Avelar S, Costa D, Gomes P & Nascimento W. (2019). Adjustments in the tetrazolium test methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. *Journal of Seed Science*, 41, 007-012. 515
516
- [22] Elias G, Copeland O, McDonald B & Baalbaki Z. (2012). *Seeds and Seedlings. Seed testing: principles and practices*. (pp. 22-24). Michigan State University Press. 517
518
- [23] Carranza C, Lancho O, Miranda D & Chaves B (2009). Análisis del crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.) 'Batavia' cultivada en un suelo salino de la Sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, v.27, p.41-48. 519
520
- [24] Stross R. (2021). Germination and seedling development. Salem Press Encyclopedia of Science. 521
- [25] Lim W, & Lee C. (2021). Functional Involvement of Highly Abscisic Acid-Induced Clade A Protein Phosphatase 2Cs in Delayed Seed Germination Under Cold Stress. *Journal of Plant Biology*, 64(6), 543-553. 522
523
- [26] Silva R, Lazarotto C, Schwambach J, Overbeck E, & Soares L. (2017). Phytotoxic effects of extract and essential oil of *Eucalyptus saligna* (Myrtaceae) leaf litter on grassland species. *Australian Journal of Botany*, 65(2), 172-182. 524
525
- [27] Imatomi M, Novaes P, & Gualtieri J. (2013). Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. *Acta Botanica Brasílica*, 27(1), 54-61. 526
527
- [28] Chauhan A, Kumari N, Saxena C, & Singh S. (2022). Effect of germination on fatty acid profile, amino acid profile and minerals of amaranth (*Amaranthus* spp.) grain. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-10. 528
529
- [29] El-Shora M, Alharbi M, Darwish B, & Gad D. (2022). Allelopathic potential of aqueous leaf extract of *Rumex dentatus* L. on metabolites and enzyme activities of common purslane leaves. *Journal of Plant Interactions*, 17(1), 267-276. 530
531
- [30] Barco-Antoñanzas M, Gil-Monreal M, Eceiza V, Royuela M., & Zabalza A. (2022). Primary metabolism in an *Amaranthus palmeri* population with multiple resistance to glyphosate and pyriithiobac herbicides. *Plant Science*, 318, 111212. 532
533
534
- [31] Motmainna M, Juraimi A, Uddin M, Asib B, Islam M, Ahmad-Hamdani S, Hasan M. (2021). Phytochemical Constituents and Allelopathic Potential of *Parthenium hysterophorus* L. in Comparison to Commercial Herbicides to Control Weeds. *Plants* 2021, 10, 1445. 535
536
537
- [32] Fan P, Hostettmann K & Lou H. (2010). Allelochemicals of the invasive neophyte *Polygonum cuspidatum* Sieb. & Zucc.(Polygonaceae). *Chemoecology*, 20(3), 223-227. 538
539
- [33] Pereira C, Carvalho C, Serra N, Souza I, Costa J, & Santana A. (2017). Allelopathic effects of *Cecropia pachystachya* Trecul on germination and seedling growth of *Lactuca sativa*. *Allelopath. J*, 42, 265-280. 540
541
542
543