

Rebot, Ayelén Elena

Inhibidores naturales de la germinación a partir de plantas nativas

**Tesis para la obtención del título de grado de
Farmacéutico**

Directora: Palacios, Sara María

Documento disponible para su consulta y descarga en Biblioteca Digital - Producción Académica, repositorio institucional de la Universidad Católica de Córdoba, gestionado por el Sistema de Bibliotecas de la UCC.



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA

Facultad de Ciencias Químicas

**INHIBIDORES NATURALES DE LA GERMINACIÓN
A PARTIR DE PLANTAS NATIVAS**

Trabajo Final de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Católica de Córdoba conforme a los requisitos para obtener el Título de Farmacéutica.

Por

AYELÉN ELENA REBOT

CÓRDOBA

2017

Directora del Trabajo Final

Doctora Sara Palacios. Universidad Católica de Córdoba.

DEDICATORIA

A mi mamá por ser luz.

AGRADECIMIENTOS

A la tutora de este Trabajo Final, Dra. Sara Palacios, por su comprensión, su ayuda, su amplio conocimiento del tema tratado, por su profesionalismo y sobre todo por su paciencia.

A la profesora Cecilia Carpinella y el profesor Mariano Zaragoza por sus correcciones y consejos.

A mi papá, Jorge A. Rebot por brindarme esta posibilidad de formarme profesionalmente, por ser mi apoyo y contención.

A mis amigas Greta Albretch y Stefainia Daita por ayudarme siempre.

A mis amigas incondicionales por darme alegría todos los días.

Índice

Índice de tablas.....	vii
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Objetivos generales.....	3
4. Objetivos específicos.....	4
5. Marco Teórico.....	5
5.1 influencia de los herbicidas en el agua	5
5.2 Herbicidas en áreas protegidas.....	6
5.3. Naftoquinonas.....	6
5.4 Fitotóxico.....	7
6. Materiales y Métodos.....	8
6.1 material vegetal.....	8
6.2 semillas.....	8
6.3 bioensayos de germinación.....	8
6.4 Mezclas.....	9
7. Resultados.....	10
8. Discusión.....	15
9. Conclusiones.....	16
10. Bibliografía.....	17

Índice de tablas

Tabla I: Porcentajes de inhibición de la germinación de extractos.....	8
Tabla II: Porcentajes de inhibición de la germinación de mezclas.....	10

1. Resumen

La utilización de herbicidas en la producción agrícola, tiene como objetivo controlar el crecimiento malezas perjudiciales para el cultivo, pero a su vez estos herbicidas contienen productos químicos tóxicos que se acumulan en el agua y la tierra y producen impactos ambientales negativos. Es por ello que en los últimos años se ha visto un aumento considerable en la preocupación sobre los riesgos para el medio ambiente y la salud humana derivados del uso de herbicidas sintéticos que ha llevado a la búsqueda e investigación de nuevas técnicas agrícolas y productos químicos naturales menos contaminantes para el medio ambiente. (Rasmussen et al.)

En éste trabajo se evaluó la capacidad herbicida de plantas nativas de Córdoba, con el fin de encontrar un herbicida de origen natural, cuya persistencia en el medio ambiente se estima muy corta y que no tengan efectos contaminantes para el ecosistema y las especies que habitan.

A partir de una investigación previa donde se realizaron ensayos de 71 plantas nativas de Córdoba, Argentina que mostraron actividad herbicida se tomaron aquellas especies que obtuvieron una mayor potencia herbicida, y se realizaron con dichas especies ensayos a concentraciones más bajas de 0.5mg/ml, 0.25mg/ml, 0.125mg/ml 0.06mg/ml 0.03mg/ml y 0.015mg/ml, con el fin de seleccionar las especies más activas a dosis de miligramos por ml.

Se obtuvieron extractos etanolicos de las plantas seleccionadas y se realizaron diluciones correspondientes para obtener las diferentes concentraciones. Con las diluciones obtenidas se realizaron bioensayos de germinación en placa con semillas de *Raphanus sativa*.

Los extractos derivados de *Angelphytum aspilioides*, *B.salicifolia*, *Melissa officinalis*, *Minthostachys verticillata*, *Ophryosporus charuay*, *Podraneia ricasoliana* maifestaron 100% de inhibición de la germinación de *Raphanus sativa* (Palacios et al.) a concentraciones elevadas, pero este efecto no se mantuvo a concentraciones menores.

Además se elaboraron extractos de plantas nuevas, no investigadas anteriormente, y combinaciones de aquellos extractos que obtuvieron un mayor porcentaje herbicida.

Si bien, se demostró la capacidad alelopática de ciertas especies que obtuvieron porcentajes mayores al 50% a concentraciones de 0.5 mg/ml *Cortaderia speciosa*, *Artemisia annua* L, *Atriplex nummularia*, *Atriplex cordobensis* "macho", tipa campus, *Baccharis coridifolia*, *Jasminium mesnyi* Hance, no se identificó ninguna especie cuyo porcentaje de inhibición de la germinación sea mayor a 90% a una concentración 0.015mg/ml.

2. Introducción

La contaminación ambiental derivada del uso de sustancias herbicidas es una importante preocupación ambiental en la actualidad, los efectos negativos de los herbicidas pueden afectar tanto a la calidad ecológica del agua como del aire y del suelo y a su biota residente (Pelosi et al.), es por eso que la búsqueda de métodos suplementarios para mantener la calidad ecológica del medio ambiente cuya pérdida sería irreparable, es de suma importancia.

Los herbicidas y sus residuos llegan a los ríos a través de diferentes vías, estos pueden persistir e incluso acumularse en el agua como compuestos insolubles y pueden contribuir significativamente a la toxicidad de las especies acuáticas, especialmente macro invertebrados. (Rasmussen et al.).

Además existen contaminantes que permanecen por largos periodos de tiempo en el medio ambiente y pueden llegar a las aguas superficiales a través de aguas subterráneas, deposiciones atmosféricas o través de filtraciones continuas de campos de agricultura y vertederos, esto genera un nivel relativamente constante de pesticidas en la superficie del agua haciendo que la cantidad anual de pesticidas en agua dulce pueda superar varias veces la cantidad anual aplicada para esa zona geográfica. (Rasmussen et al.)

Una forma más racional de control de malezas está orientada a la identificación de sustancias naturales que pueden controlar la aparición de malezas. Estas sustancias son metabolitos de origen vegetal que, en muchos casos, tienen un propósito defensivo en la naturaleza, especialmente en las plantas que tienen pocas opciones que no sean sustancias químicas para evitar y combatir plagas o especies de plantas competitivas. Por lo tanto, la evaluación de las plantas para las actividades de plaguicidas es una estrategia muy viable para el descubrimiento de herbicidas nuevos (Cantrell et al.)

Las nuevas técnicas agrícolas apuntan a un manejo orgánico de los suelos. Actualmente aproximadamente el 0.7% de áreas agrícolas de Latinoamérica tienen un manejo orgánico de los suelos lo que representa 6.4 millones de hectáreas bajo cultivación orgánica de los cuales solo 2.4 millones de ha están en Argentina. (Willer et al.)

Hay evidencia de alelopatía en algunas especies, pero no siempre se han identificado los aleloquímicos responsables (Blair et al.)

En este estudio se evaluará la capacidad alelopática de especies vegetales con el fin de encontrar una especie cuyo potencial inhibitorio sea relativamente alto (90%) para ser producido a gran escala como herbicida.

3. Objetivos generales

Detectar plantas con capacidad inhibitoria de la germinación y el crecimiento vegetal para ser utilizado como herbicida natural.

4. Objetivos específicos

- Determinar la concentración mínima capaz de inhibir la germinación de especies vegetales, utilizando extractos de plantas nativas de Córdoba.
- Determinar la concentración mínima capaz de inhibir la germinación de especies vegetales, utilizando combinaciones de extractos de plantas nativas de Córdoba.

5. Marco teórico

5.1 influencia de los herbicidas en el agua

Los pesticidas aplicados actualmente en los campos agrícolas pueden llegar a la superficie de los ríos a través de diferentes vías, las más importantes son a través de vertederos superficiales y a través de los sistemas de drenaje. Esta llegada se da principalmente en las épocas de fuerte precipitación y da como resultado una concentración máxima transitoria.

Los plaguicidas y sus residuos pueden persistir e incluso acumularse como sedimentos en ecosistemas de agua dulce. Debido a esta acumulación, la concentración anual de pesticidas existentes en ecosistemas de agua dulce puede exceder varias veces la cantidad anual aplicada para esa zona geográfica. (Rasmussen et al.)

La mayoría de los pesticidas (organoclorados y triazinas) tienen el potencial de persistir varias décadas en los suelos agrícolas, en consecuencia, estos suelos son importantes fuentes que proporcionan un flujo continuo de pesticidas hacia los ecosistemas de agua dulce a través de una corriente superficial. Es decir, que una de las fuentes más predominantes de pesticidas son las capas superiores del suelo. Durante épocas de lluvia se produce la re suspensión de las partículas del suelo contaminado y por lo tanto esta sería una de las fuentes principales que lleva a un aumento de las concentraciones de plaguicidas observados durante la época de tormenta.

Hay diversos factores que influyen el destino de un pesticida en las zonas agrícolas, incluyendo una variedad de productos químicos y ambientales propiedades del pesticida (por ejemplo, velocidad de degradación, la adsorción en carbono orgánico y solubilidad en agua), los factores climáticos (temperatura y precipitación, por ejemplo), las características del suelo, topografía y prácticas agrícolas (Leonard et al.).

Otras fuentes adicionales podrían incluir deposiciones atmosféricas, fuentes puntuales tales como vertederos de residuos, de uso industrial y comercial de productos, y el uso privado ilegal. (Weber et al.)

Entre los pesticidas existentes, los clorpirifos organofosforados y organoclorados como el DDT y lindano son principalmente tóxicos en pescado e invertebrados, mientras que el diuron y los herbicidas de triazina (terbutilazina y simazina) son principalmente tóxicos para algas.

5.2 Herbicidas en áreas protegidas

Muchos países tropicales contienen una alta densidad de los ecosistemas protegidos, estos a menudo están rodeados por una gran cantidad de campos agrícolas que utilizan agroquímicos. En estas áreas protegidas la concentración de plaguicidas supera el umbral de seguridad vigente, esta contaminación genera un deterioro ecológico en los sitios protegidos.

La producción agrícola convencional deja residuos que llegan a los campos protegidos través de redes fluviales interconectadas, esto genera un riesgo significativo de contaminación por herbicidas en los ríos de las áreas protegidas. En estos se supera concentraciones límites estimadas para la prevención de los efectos ambientales, especialmente durante la temporada de lluvias. (Rasmussen et al.)

Además en zonas tropicales al aumentar la temperatura de los ríos, se ve aumentada la sensibilidad de la especies a la acción toxica de los agroquímicos. (Rico et al.)

Los herbicidas además son transportados a través de las corrientes a las reservas naturales protegidas aguas abajo

La aplicación de pesticidas aguas arriba puede causar una contaminación critica de las organismos en el curso inferior de los ríos aguas abajo

El área de cultivo utilizado para el crecimiento de cultivos orgánicos no debe ser tratada con pesticidas y herbicidas sintéticos como mínimo por tres años anteriores a la cosecha, y el control de la maleza se basa principalmente en el uso de técnicas agrícolas ecológicas. (Lin et al.)

5.3 Naftoquinonas

Las naftoquinonas es una sustancia producida por la especie *Impatiens glandulifera*, que fue aislada por su alto potencial inhibidor del crecimiento de malezas. Esta sustancia se encuentra especialmente en las raíces de la planta y es liberada hacia la tierra durante las épocas de lluvia. (Ruckli et al.)

Los extractos acuosos de brotes de floración de *I.glandulifera* inhiben la germinación y la longitud de la raíz con éxito.

Impatiens glandulifera contiene metabolitos secundarios incluyendo flavonas, derivados del ácido cafeico y naftoquinonas las naftoquinonas han sido objeto de estudios ecológicos debido a sus propiedades anticancerígenas crecimiento de bacterias, germinación y crecimiento de plantas, y sus efectos negativos sobre el desarrollo larvario (Terzi I.)

En general, las sustancias fitotóxicas se liberan de plantas al medio ambiente por: (1) exudación de raíces, (2) lixiviación De las plantas por lluvia, o (3) descomposición de residuos.

5.4 Fitotxico

La Antofina es un fitoquímico altamente bioactivo, presente en concentraciones mayores en los tejidos de las raíces en comparación con los tejidos de los brotes.

Se identificó la (-) antofina fitoquímica como una potente fitotoxina capaz de inhibir la germinación de las semillas y el crecimiento radicular (Gibson et al)

Vincetoxicum rossicum y *V. nigrum*, son dos especies de plantas invasoras asiladas por su alta actividad. Ambas especies poseen una fitotoxina altamente bioactiva denominada Antofina en los tejidos de las raíces que causa una inhibición de la germinación de especies vegetales realizada en bioensayos de laboratorio.

Se encontró que los eextractos de semillas y plantas jóvenes tenían aproximadamente 2-3 veces la concentración de antofina en comparación con los extractos de raíz de Plantas. (Gibson et al)

Los productos de descomposición de antofina se acumulan rápidamente ante la exposición a la luz, pero lo hacen más lentamente en la oscuridades es por ello que estos productos no retienen actividad biológica cuando son conservados bajo ausencia de luz. Las plantas invasoras exhiben típicamente un conjunto propiedades que pueden contribuir efectivamente a su invasividad en un nuevo entorno ambas especies poseen alta fecundidad, particularmente en ambientes de alta luz (Averill et al.)

6. Materiales y Métodos

6.1 Materia vegetal

Las plantas fueron recolectadas en la provincia de Córdoba, Argentina y fueron seleccionadas de acuerdo a su disponibilidad y accesibilidad.

El material vegetal fue secado al aire a temperatura ambiente, molidas y luego extraídas mediante una maceración de 48hs con etanol. Los rendimientos de cada extracto viscoso, obtenido después de la eliminación del disolvente, expresado como porcentaje en peso de material vegetal secado al aire.

6.2 Semillas

Las semillas de *Raphanus sativus* utilizadas en los ensayos de herbicidas, fueron adquiridas en semillería Florenso, Córdoba Argentina.

6.3 Bioensayos de germinación

Cinco semillas por well de *Raphanus sativus* fueron sembrados en una placa con 300µl de agua destilada y con 0.5mg de extracto etanólico disueltos en 2ml DMSO dimetil sulfoxido de esta solución se tomó 6 µl 3 µl y 1.5 µl que se llevaron a volumen final con 300 µl de agua destilada para obtener concentraciones de 0.5 mg/ml 0.25 mg/ml y 0.125 mg/ml respectivamente que se repitieron tres veces cada concentración.

Además de la elaboración de un control el cual contenía 300 µl de agua destilada y 6 µl de DMSO, que fue replicado como mínimo tres veces.

El ensayo se colocó en una habitación de temperatura $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa 70-75% apta para su crecimiento.

Luego de 2 a 7 días se evalúa el crecimiento y se calcula el índice de inhibición de la germinación $IG\% = [1 - (T/C)] \times 100$, donde T es el número de plantas germinadas en el tratamiento, y C es el número de plantas germinadas en el control.

Además se realizaron mezclas de aquellos extractos que exhibían una actividad herbicida mayor.

6.4 Mezclas

Se prepararon dos soluciones que contenían 0.5 mg de extracto etanolico disuelto en 2 ml de DMSO respectivamente, de cada dilución se tomó 1ml y se mezcló. Una vez obtenida la combinación de los dos extractos se procedió a realizarlos bioensayos de germinación, explicado en el punto 6.3.

7. Resultados

Tabla I: Porcentajes de inhibición de la germinación de extractos vegetales nativos de Córdoba, Argentina medido en *Raphanus sativus*.

	% Inhibición de la germinación					
	0,5 mg/ml	0,25 mg/ml	0,125 mg/ml	0,06 mg/ml	0,03mg/ml	0,015mg/ml
<i>Flourensia campestris</i> Griseb.	0	0	0	0	0	0
<i>Cortaderia speciosa</i> (Nees & Meyen) Stapf	54,70					
<i>Ophryosporus charua</i> (Griseb.) Hieron	0					
<i>Angelphytum aspilioides</i> (Griseb.) H. Rob.	28,55					
<i>Prosopissp alba</i> (Griseb.)	13,40	6,08	20,40	33,40	0	26,80
<i>Baccharis rufescens</i> Spreng	0					
<i>Artemisia annua</i> L.	53,20	7,60	22,55	6,30	15,47	30,20
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Pers	18,0	15,80	15,80	8,90	8,90	2,90
<i>Atriplex nummularia</i>	53,80	15	53,80			
<i>Atriplex cordobensis</i> "macho"	50,20	20	0			

<i>Atriplex cordobensis</i> "hembra"	39,90	39,90	9,90			
*P-127	0	0	-8,30			
*P-128	42,50	25	25,00			
<i>Adesmia muricata</i> (Jacq.) DC. var. <i>dentata</i> (Lag.) Benth	8,40	56	11,10			
<i>Tradescantia fluminensis</i> Vell.	50	50	14,16			
<i>Tradescantia fluminensis</i> Vell.	3,70	4	3,70	11,10	11,10	2,6
*P-132	64,40	42,90	28,50			
*P-133	79,34	20,78	11,75			
*P-134	30,30	39,40	39,40			
*P-135	50	16,50	34,80			
*P-136	16,70	11,10	33,80			
*P-137	23,10	7,62	0			
<i>Phacelia pinnatifida</i> Griseb. Ex Wedd.	39,39	9,09	51,50			
<i>Croton</i> sp. (sin identificar)	39,39	21,21	21,21			
<i>Polystichum montevidense</i> (Spreng.) Rosenst.	20	20	13,40			
<i>Calceolaria parviflora</i> Benth.	9,06	13,93	12,12			
<i>Echium plantagineum</i> L.	14	8	8			
<i>Jasminium mesnyi</i> Hance	60	28	48	60	14	14
<i>Jasminium mesnyi</i> Hance (centeno)	7,18	10,72	0	0	10,73	0

Tabla II. Porcentajes de inhibición de la germinación de mezclas de extractos vegetales nativos de Córdoba, Argentina medidos en *Raphanus Sativus*.

	% Inhibición de la germinación					
	0,5 mg/ml	0,25mg/ ml	0,125 mg/ml	0,06 mg/m l	0,03mg/ ml	0,015mg/ ml
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	18,19					
<i>Cortaderia speciosa</i> (Nees&Meyen) Stapf	54,70					
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers. / <i>Cortaderia speciosa</i> (Nees&Meyen) Stapf	27,58	9,20	0			
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	17,87					
<i>Flourensia oolepis</i> S.F. Blake	32,75					
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers. / <i>Flourensia oolepis</i> S.F. Blake	32,32	30,20	23,71	22,50	22	13,36
<i>Trichocline reptans</i> (Wedd.) Hieron.	43,79					
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	17,87					
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers./ <i>Trichocline reptans</i> (Wedd.) Hieron.	40,31	23,14	16,41			
<i>Flourensiac ampestris</i> Griseb	0					
<i>Flourensia oolepis</i> S.F. Blake	48,70					
<i>Flourensia campestris</i> Griseb / <i>Flourensia oolepis</i> S.F. Blake	0					
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	7,09					

<i>Angelphytum aspilioides</i> (Griseb.) H. Rob.	28,55				
<i>Angelphytum aspilioides</i> (Griseb.) H. Rob./ <i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	14,17	0	-7,29		
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	20				
<i>Ophryosporus charua</i> (Griseb.) Hieron	0				
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers./ <i>Ophryosporus charua</i> (Griseb.) Hieron	6,80	6,80	0		
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	20				
<i>Aristolochia argentina</i> Griseb.	26,80				
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers./ <i>Aristolochia argentina</i> Griseb.	60	46,80	6,80		
<i>Baccharis artemisioides</i> Hook. & Arn.	54,54				
<i>Baccharis coridifolia</i> DC.	86,36				
<i>Baccharis coridifolia</i> DC./ <i>Baccharis artemisioides</i> Hook. & Arn.	63,63	25	2,27		
*P-133	62,57				
<i>Ophryosporus charua</i> (Griseb.) Hieron.	39,43				
*P-133 / <i>Ophryosporus charua</i> (Griseb.) Hieron.	51,34	50,6	24,38	21,39	17,2
*P-133	76,75				
<i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	15,40				
<i>tipa campus</i> / <i>Baccharis salicifolia</i> (Ruiz et Pav.) Pers.	0	-7,60	38,57		

*P-133	76,75		
<i>Flourensiaolepis</i> S.F. Blake	13,04		
<i>tjpa campus /Flourensiaolepis</i> S.F. Blake	64,85	35,14	35,63

(*) Especie en vías de identificación botánica.

8. Discusión

La capacidad alelopática de 33 especies vegetales fue examinada mediante bioensayos de germinación en *Raphanus sativus* expuestos en la Tabla 1, éstas plantas son nativas de Córdoba, Argentina.

En un estudio previo se observó la capacidad alelopática de 71 especies nativas de Córdoba concentraciones superiores 10mg/ml (Palacios et al.)

Si bien en algunas especies se pudo demostrar la capacidad de inhibición de la germinación de algunas especies, éstos resultados no se mantienen cuando las concentraciones son más bajas. El mayor porcentaje obtenido a 0.015mg/ml es de 30,20% *Artemisia annua* L., luego sigue *Baccharis articulata* 29,90% y 26,80% *Prosopis alba*.

En cuanto a las combinaciones de especies que se hicieron, que se muestran en la Tabla 2, La combinación de *Baccharis salicifolia* (Ruiz et Pav.) Pers./*Trichocline reptans* (Wedd.) mostró un alto sinergismo con un porcentaje de inhibición de 40,31% a una concentración de 0.05 mg/ ml, pero este sinergismo no se mantuvo en las otras mezclas.

Este ensayo fue realizado en semillas de *Raphanus sativus*, perteneciente a la variedad de monocotiledones, sin embargo se necesita además un ensayo para plantas monocotiledoneas.

9. Conclusiones

Los resultados arrojaron que para:

Concentración 0,5 mg/ml

- 6 extractos dieron un % inhibición igual o superior al 50%.
- 3 extractos entre el 30-50%
- el resto menos del 20%.

Las combinaciones los extractos mostraron:

- en 2 casos que el porcentaje fue mayor al de la planta sola
- en un caso la combinación redujo el porcentaje de inhibición.

Estos resultados arrojan que hay especies que tienen un potencial de inhibición de la germinación

Con estos resultados podemos concluir que se ha demostrado actividad alelopática en algunas especies, cuya concentración efectiva no alcanza la concentración mínima buscada (0,015g/ml).

La combinación de algunas extractos vegetales ha mostrado sinergismo no alcanzando igualmente ser efectivo en la concentración buscada y en algunos casos ha habido una disminución de la actividad.

La búsqueda estaba orientada a una planta cuyo potencial de inhibición sea mayor al 90% a concentración 0.015 mg/ml para que sea producible a nivel industrial, si bien no se pudo encontrar hasta el momento una especie que alcance ese potencial se hallaron muchas especies que demostraron tener capacidad alelopática.

10. Bibliografía

- Averill K.M., DiTommaso A., Mohler C.L., Milbrath L.R. Establishment of the invasive perennial *Vincetoxicum rossicum* across a disturbance gradient in New York State USA. *Plant Ecology* 2010; 211:65–77.
- Blair A.C., Nissen S.J., Brunk G.R., Hufbauer R.A. A lack of evidence for an ecological role of the putative allelochemical (\pm)-Catechin in spotted knapweed invasion success. *Journal Chemical Ecology* 2006; 32:2327–2331.
- Cantrell C.L., Duke S.O., Fronczek, F.R., Osbrink W.L.A., Mamonov L.K., Vassilyev J.I., Wedge D.E., Dayan F.E. Phytotoxic Eremophilanes from *Ligularia macrophylla*. *J. Agric. Food Chem* 2007; 55: 10656–10663.
- Gibson D.M., Vaughan R.H., Milbrath L.R. Invasive Swallow-worts: An Allelopathic Role for (-) Antofine Remains Unclear. *Journal of Chemical Ecology* 2015; 41: 202-2011.
- Leonard R.A. Movement of pesticides into surface waters. En: *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts and modelling*. Soil Science Society of America, Cheng HH (ed) Madison, Estados Unidos 1990, pp. 303-349
- Lin D., Sugitomo Y., Dong Y., Terao H., Matsuo M. Natural herbicidal potential of Saururaceae (*Houttuynia cordata* Thunb) dried powders on paddy weeds in transplanted rice. *Crops and Products* 2006; 25:1126–1129.
- Palacios S.M, Del corral S., Carpinella M.C, Ruiz G. Screening for natural inhibitors of germination and seedling growth in native plants from Central Argentina. *Industrial Crops and Products* 2010; 30: 674-677.
- Pelosi C., Barot S., Capowiez Y., Hedde M., Vandebuckle F. Pesticides and earthworms. Review article 2014; 34:199-228
- Rasmussen J.J, Wiberg-Larsen P., Baattrup-Pedersen A., Cedergreen N., McKanight U., Kreuger J., Jacobsen D., Esben A.K., Friberg N. The legacy of pesticide pollution: An overlooked factor in current risk assessments of freshwater systems. *Water Research* 2015, DOI: 10.1016.
- Rasmussen J.J., Reiler E.M., Carazo E., Matarrita E., Muñoz A., Cedergreen N. Influence of rice field agrochemicals on the ecological status of a tropical stream. *Science of the Total Environment* 2016; 542: 12-21.
- Rico A., Van den Brink P.J. Evaluating aquatic invertebrate vulnerability to insecticides based on intrinsic sensitivity, biological traits and toxic mode-of-action. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2015 <http://dx.doi.org/10.1002/etc.3008>
- Ruckli R., Hesse K., Glauser G., Rusterholz P.H., Baur B. Inhibitory Potential of Naphthoquinones Leached from Leaves and Exuded from Roots of the Invasive Plant *Impatiens glandulifera*. *Journal of Chemical Ecology* 2014, DOI 10.1007.

- Terzi I. Allelopathic effects of juglone and decomposed walnut leaf juices on muskmelon and cucumber seed germination and seedling growth. *African Journal Biotechnol.* 2008; 7:1870–1874
- Willer H., Klicher L., *TheWorld of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2009.* IFOAM/FiBL/ITC, Frick/Bonn/Geneva, www.organic-world.net.
- Weber J., Halsall C.J., Muir D. (2010) Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Science of the Total Environment* 2010; 15:2966-2984 doi:10.1016