



Efecto preemergente del extracto de *Pinus* sp., en *Arthraxon quartinianus* (A. Rich.), en invernadero¹

Effect of preemergent the extract of *Pinus* sp., in *Arthraxon quartinianus* (A. Rich.), in greenhouse

Mary Pamela Portugal-García², Renán Agüero-Alvarado³, María Isabel González-Lutz³

¹ Recepción: 21 de diciembre, 2019. Aceptación: 30 de abril, 2020. Este trabajo formó parte del proyecto presentado en la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica 736-B8-A60 nombrado: Evaluación de herbicidas naturales y sustancias con efecto fitotóxico sobre poblaciones de malezas.

² Universidad de Costa Rica, Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, Programa de Malezas. Alajuela, Costa Rica. mary.portuguez@ucr.ac.cr (autora para correspondencia; <https://orcid.org/0000-0002-3520-7699>), raguero@fbm@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0001-9053-9998>).

³ Universidad de Costa Rica, Escuela de Estadística. San José, Costa Rica. mariaisabel.gonzalezlutz@ucr.ac.cr (<https://orcid.org/0000-0002-3073-7746>).

Resumen

Introducción. El extracto de pino puede presentar actividad herbicida. **Objetivo.** Evaluar el efecto preemergente de un extracto de *Pinus* sp. en invernadero. **Materiales y métodos.** Se realizaron dos experimentos en el invernadero K de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno (EEAFBM), Universidad de Costa Rica, el primero en el mes de julio y el segundo entre setiembre y octubre del 2018. En el primero se evaluó el efecto preemergente del pino, con y sin adherente añadido al caldo de aspersión, sobre *Arthraxon quartinianus* (A. Rich.) y un banco de semillas que contenía diferentes especies; en el segundo experimento se evaluó el efecto preemergente del pino sobre *Amaranthus* sp., *Ischaemum rugosum* Salisb., arroz (*Oryza sativa*), pepino (*Cucumis sativus*) y un banco de semillas. En ambos experimentos se asperjó una formulación de extracto de pino al 15 % (3,75 kg i.a. ha⁻¹). En ambos experimentos se contó el número de plántulas emergidas, en el primero se anotó a los nueve días después de la aspersión (dda) y en el segundo a los 17 dda. **Resultados.** El efecto preemergente sobre especies de hoja ancha no fue significativo, pero si lo fue para *A. quartinianus* (A. Rich.) (p=0,0009). El adherente redujo el efecto del extracto de pino sobre *A. quartinianus* (A. Rich.) (p=0,0116) y sobre otras especies de hojas angostas (p=0,0398). Se produjo un aumento de la germinación de las malezas procedentes del banco de semillas, 121 % para las especies de hoja ancha en general y 92 % para el *Amaranthus* sp. (p=0,013); además, el adherente aumentó la germinación de las semillas de arroz en un 34 % (p<0,0001). **Conclusiones.** En invernadero solo hubo efecto preemergente significativo del pino para la arvense *A. quartinianus* (A. Rich.). El extracto de pino aumentó la germinación de varias especies.

Palabras clave: herbicidas naturales, banco de semillas, *Ischaemum rugosum* Salisb., sustancias alelopáticas.



Abstract

Introduction. The pine extract may have herbicidal activity to other plants, affecting seed emergence. **Objective.** To evaluate the pre-emergent effect of a *Pinus* sp. extract in a greenhouse. **Materials and methods.** Two experiments were carried out in the K greenhouse of the Fabio Baudrit Moreno Agricultural Experimental Station (EEAFBM), Universidad de Costa Rica, the first in July and the second between September and October 2018. In the first one, the pre-emergent effect of pine extract, with and without added adherent to the spraying broth, on *Arthraxon quartinianus* (A. Rich.) and a seed bank containing different species were evaluated; in the second experiment the pre-emergent effect of pine on *Amaranthus* sp., *Ischaemum rugosum* Salisb., rice (*Oryza sativa*), cucumber (*Cucumis sativus*), and a seed bank was evaluated. For both experiments, a 15 % formulation of pine extract (3.75 kg a.i. ha⁻¹) was sprayed. In both experiments, the number of seedlings emerged was counted, in the first experiment it was recorded at nine days after spraying (das) and in the second at 17 das. **Results.** The pre-emergent effect on broad-leaved species was not significant, but it was for *A. quartinianus* (A. Rich.) (p=0,0009). The adherent reduced the effect of the pine extract on *A. quartinianus* (A. Rich.) (p=0,0116) and other species (p=0,0398). There was an increase in the germination of weeds coming from the seed bank, 121 % for broad-leaved species in general, 92 % for *Amaranthus* sp. (p=0,013). Besides, the adherent increased the germination of rice seeds by 34 % (p<0,0001). **Conclusions.** In a greenhouse there was only a significant pre-emergent effect of pine for the weed *A. quartinianus* (A. Rich.). The pine extract increased the germination of several species.

Keywords: natural herbicides, seed bank, *Ischaemum rugosum* Salisb., allelopathic substances.

Introducción

El pino (*Pinus* sp.) tiene propiedades alelopáticas debido a la presencia de hidrocarburos monoterpénicos que se encuentran en sus acículas, estos compuestos controlan el patrón de vegetación en algunos bosques (Anaya et al., 2001). Hay reportes indican que el efecto inhibitorio se debe a pignogenoles (Revista Vinculando, 2008), compuestos fenólicos (Ballester et al., 1982), diterpenos oxigenados, hidrocarburos sesquiterpenos, óxido de manol, germacreno D-cadineno, (*E*)- cariofileno, α -cadinol (Amri et al., 2017), así como monoterpenos tales como α -pineno, β -pineno, canfeno, myrceno, limoneno, β -felandreno, 3-careno y γ -terpineno (Wilt et al., 1993).

Los pignogenoles presentes en las acículas, inhiben la germinación de las arvenses, el mecanismo de acción de estos compuestos es la inhibición de la enzima ácido indolacético-oxidasa (Revista Vinculando, 2008). La aplicación de 58 g de acículas en un litro de agua de *P. caribaea* Morelet en parcelas de café, resultó en la reducción de la germinación de especies de arvenses (Hernández y Álvarez, 2008). En otro estudio se aplicó 1 kg de acículas en 10 l de agua sobre parcelas de café en cultivo protegido con sombra, lo cual inhibió la germinación de las arvenses en un 96 % (Jiménez-Ferrer et al., 2006). El uso de 25 g de acículas en 100 ml de agua de dos tipos de pino *P. pinaster* y *P. radiata* produjeron efecto inhibitorio de la germinación de especies de arvenses; no obstante, en dicho estudio siempre hubo una especie de arvense más susceptible al efecto del pino que las otras especies de prueba (Ballester et al., 1982).

Los efectos alelopáticos del pino pueden variar en cuanto a eficacia de acuerdo con la especie de arvense (Ballester et al., 1982; Amri et al., 2017), la época de recolección de la muestra del pino, las condiciones climáticas y las características físicas del suelo, porque, los terpenos podrían ser adsorbidos y retenidos por los coloides del suelo (Ballester et al., 1982). Revista Vinculando (2008) sugirió que el efecto preemergente del pino se inactiva en el suelo a causa de su biodegradabilidad. Se ha informado que la rápida biodegradación de moléculas de origen natural es muy común y muchas veces impide el éxito como herbicidas naturales (Dayan et al., 2012).

La hormesis herbicida es un mecanismo por el cual ocurre un efecto estimulante a un nivel subtóxico de un herbicida o una fitotóxina. La aparición y la magnitud de este fenómeno dependen de la etapa de crecimiento de la planta, el estado fisiológico y los factores ambientales (Belz y Duke, 2014). Se reportó hormesis con la fitotoxina juglona en la germinación de *Sinapsis alba* L.; dicha sustancia natural posee efecto bioherbicida (Chobot y Hadacek, 2009). Los extractos alelopáticos de *Parthenium hysterophorus* L. provocaron hormesis en el crecimiento de las raíces de las especies de prueba (Duke et al., 2006).

Los coadyuvantes en mezcla con herbicidas preemergentes evitan las pérdidas que sufren estos últimos una vez asperjados al suelo, permiten un menor número de aspersiones y de dosis (Undabeytia et al., 2010). La mayor parte de los estudios reporta el uso de coadyuvantes con herbicidas sintéticos. El uso de surfactante en bajas concentraciones (0-20 ml l⁻¹), disminuyó la movilización y la sorción de la atrazina (Tao et al., 2006). Asimismo, la mezcla de surfactante a baja concentración (0,04 g kg⁻¹) disminuyó la movilidad del metolaclor en el suelo (Sánchez et al., 1995).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto preemergente de un extracto de pino (*Pinus* sp.) en invernadero.

Materiales y métodos

Se llevaron a cabo dos experimentos en el invernadero K de la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno (EEAFBM), en la provincia de Alajuela, Costa Rica, la cual se ubica en la latitud 10° 01' N y longitud 84° 16' O. La EEAFBM se encuentra a 840 msnm, la temperatura media anual es de 23,9 °C, la humedad relativa promedio es de 80 %. El primer experimento se realizó del 4 al 12 de julio de 2018 y el segundo del 27 de septiembre al 18 de octubre del 2018.

En el primer experimento se sembró *Arthraxon quartinianus* (A. Rich.) a 0,5 cm de profundidad. Esta arvense se escogió por cuanto su densidad muestra significativo aumento en caña de azúcar orgánica. Se usaron maceteros de 17 cm de diámetro. Estos se llenaron con un suelo de textura franco arenoso (arena 65 %, limo 20 %, 15 % arcilla) proveniente de la EEAFBM. Las semillas de *A. quartinianus* (A. Rich.) se embebieron en agua por 48 horas para romper su latencia.

Se usaron ocho repeticiones para cada tratamiento. También se incluyó un tratamiento adicional sin siembra de esta especie, para evaluar el efecto del extracto de pino (Skat orgánico, s.f.), sobre especies del banco de semillas.

La aspersión se hizo un día después de la siembra de *A. quartinianus* (A. Rich.). El extracto de pino se usó a una dosis de 3,75 kg ha⁻¹. Este producto venía formulado al 15 % de extracto de pino (Skat orgánico, s.f.). Al caldo de la mezcla se añadió un adherente (alcohol isotridecílico etoxilado) al 0,5 % (% v/v); el otro tratamiento consistió en asperjar sin adherente. La aplicación se hizo con una bomba manual con capacidad de 18 l con una boquilla 8002, el equipo se calibró a un volumen de 250 l ha⁻¹.

A los nueve días después de la aspersión se contaron las plántulas de hojas anchas (dicotiledóneas) y las de hojas angostas (monocotiledóneas) emergidas. El diseño experimental utilizado fue un irrestricto al azar.

En el segundo experimento se utilizaron semillas de dos cultivos: pepino (*Cucumis sativus*) y arroz (*Oryza sativa*) y dos especies de malezas (*Amaranthus* sp. e *Ischaemum rugosum* Salisb.). Estas se sembraron de la misma forma que se describió en el experimento anterior. En cada macetero se hicieron cinco puntos de siembra, en cada uno de los cuales se colocaron cinco semillas de cada cultivo y en caso de las arvenses se colocaron diez. Se usó el doble de puntos de siembra para las arvenses, debido a que, por lo general, estas muestran menor germinación que los cultivos. Se incluyeron diez maceteros a los cuales no se les sembró ninguna especie de cultivo ni de arvense, para ver el efecto fitotóxico del pino en el banco de semillas del suelo de la EEAFBM. Se incluyó un testigo sin aspersión de extracto de pino.

A los diecisiete días después de la aspersión se contaron las plántulas de hoja ancha y hoja angosta emergidas. Al transcurrir veinticuatro horas se hizo el primer riego de un minuto con micro aspersores, la calibración del sistema de riego fue de $1,26 \text{ l min}^{-1} \text{ m}^{-2}$; se programaron diariamente tres riegos de un minuto de duración, a intervalos de ocho horas.

El diseño experimental fue un irrestricto aleatorio con diez repeticiones para cada tratamiento. Los datos se analizaron con un modelo de regresión de Poisson, con corrección de Firth para sobredispersión cuando esta se hallaba presente, con un nivel de significancia del 5 %, con el software JMP.

Resultados

El extracto de pino mostró una tasa de disminución del 67 % en *A. quartinianus* (A. Rich.) con respecto al testigo ($p=0,0009$) (Cuadro 1). Agregar adherente tuvo un efecto negativo sobre la actividad herbicida del extracto de pino. Sin adherente, este extracto disminuyó la germinación de plantas en un 53 % más que cuando se le agregó adherente ($p=0,0398$). En los maceteros donde se sembró *A. quartinianus* (A. Rich.), el extracto de pino no presentó efecto preemergente sobre las malezas de hoja ancha que emergieron de manera espontánea (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tasas de cambio del número de plántulas emergidas al agregar extracto de pino en preemergencia en invernadero y probabilidades asociadas para la hipótesis de tasa de cambio igual cero para cada contraste definido. Alajuela, Costa Rica. 2018.

Table 1. Exchange rates in the number of emerged seedlings when adding pine extract in preemergence in a greenhouse and associated probabilities for the hypothesis of a rate of change equal to zero for each defined contrast. Alajuela, Costa Rica. 2018.

Contraste	<i>Arthraxon quartinianus</i> A. Rich.		Banco de semillas	
	Tasa*	Probabilidad asociada	Tasa	Probabilidad asociada
Hoja ancha				
Extracto de pino vs. testigo	-41 %	0,5243	121 %	0,0327*
Extracto sin adherente vs. Extracto + adherente	-80 %	0,0116*	170 %	0,0108*
Hoja angosta				
Extracto de pino vs. testigo	-67 %	0,0009*	343 %	0,0180*
Extracto sin adherente vs. Extracto + adherente	-53 %	0,0398*	144 %	0,1125

*Tasas positivas son incrementos porcentuales y tasas negativas son disminuciones porcentuales / *Positive rates are percentage increases and negative rates are percentage decreases.

En lo que respecta al banco de semillas, asperjar extracto de pino, en todos los casos no produjo efecto preemergente.

La aplicación de extracto de pino produjo un incremento de 92 % en la emergencia de plántulas de *Amaranthus* sp. ($p=0,013$) y un 34 % en arroz ($p<0,0001$) (Cuadro 2). En el banco de semillas, en pepino y en *I. rugosum* Salisb. no se produjo significancia.

Cuadro 2. Tasas de cambio del número de plántulas emergidas, según especie y probabilidades asociadas para la comparación entre aplicar y no aplicar extracto de pino en preemergencia en invernadero. Alajuela, Costa Rica. 2018.

Table 2. Exchange rates in the number of emerged seedlings, according to species and associated probabilities for the comparison between applying and not applying pine extract in pre-emergence in a greenhouse. Alajuela, Costa Rica. 2018.

Especie	Tasa*	Probabilidad
<i>Amaranthus</i> sp.	92 %	0,0130*
<i>Oryza sativa</i>	34 %	<0,0001*
Banco de semillas	75 %	0,1070
<i>Ischaemum rugosum</i> Salisb.	33 %	0,2064
<i>Cucumis sativus</i>	0	0,9999

*Tasas positivas son incrementos porcentuales y tasas negativas son disminuciones porcentuales / *Positive rates are percentage increases and negative rates are percentage decreases.

Discusión

El extracto de pino disminuyó la germinación de *A. quartinianus* (A. Rich.), no así sobre otras Poaceae o sobre especies de hoja ancha. No se tiene claridad de las razones para esto, por lo que se sugieren más estudios. *A. quartinianus* (A. Rich.) es una especie importante en sistemas de producción de caña orgánica en Turrialba, por lo que, si se reiteran estos resultados en el campo, se trataría de un tratamiento muy específico, que quizás de paso a otras arvenses para las que se tendría que desarrollar otras alternativas.

Los resultados de este trabajo coinciden con el efecto fitotóxico reducido sobre la germinación de arvenses que reportó Revista Vinculando (2008). Este autor atribuyó la ausencia de eficacia del pino a su rápida biodegradación una vez que entra en contacto con el suelo. La biodegradabilidad de las moléculas naturales muchas veces impide su éxito en campo (Dayan et al., 2012). Sin embargo, lo anterior difiere con lo que reportaron Jiménez-Ferrer et al. (2006), quienes encontraron que el efecto preemergente del extracto de pino en arvenses perduró hasta los veintidós días. Las diferencias en cuanto a eficacia del extracto de pino podrían atribuirse a factores como tipo de suelo, dosis de extracto de pino, especie de pino y condiciones climáticas (Ballester et al., 1982). La germinación de las especies del banco de semillas, del *Amaranthus* sp. y del arroz, se estimuló con el extracto de pino, esto podría deberse a hormesis herbicida (Belz y Duke, 2014). Lo anterior coincide con los resultados de otras pruebas que involucraron el uso de moléculas naturales, tal es el caso de la juglona que estimuló la germinación de *S. alba* L. (Chobot y Hadacek, 2009), y el caso de los extractos alelopáticos de *P. hysterophorus* L. que estimularon el crecimiento de las raíces de las especies de prueba (Duke et al., 2006). Esto indica que ciertos compuestos alelopáticos podrían causar la hormesis y no el efecto herbicida que se busca. Aunque en este trabajo no se midió la hormesis herbicida, tal efecto podría estudiarse a fondo, ya que la estimulación de la germinación de arvenses es un factor que incide en el agotamiento del banco de semillas (Acosta y Agüero, 2001).

El uso de coadyuvantes con extracto de pino no mejoró la inhibición de la germinación en las especies que se estudiaron. Contrario a lo que reportaron Tao et al. (2006) y Sánchez et al. (1995), sobre el efecto del uso de coadyuvante en mezcla con moléculas sintéticas, lo cual evitó pérdidas de herbicida y a su vez mejoró la fitotoxicidad. Los resultados inconsistentes del uso de coadyuvante con el extracto de pino, posiblemente se deban a una incompatibilidad entre ambas sustancias, que no fue posible detectar al momento de realizar la mezcla.

Conclusiones

En invernadero el efecto del extracto de pino solo tuvo acción preemergente en la arvense *A. quartinianus* (A. Rich.)

El uso de adherente en mezcla con el extracto de pino resultó negativo, al disminuir el efecto inhibitorio de este extracto sobre la germinación de varias arvenses

El extracto de pino aumentó la germinación de varias especies.

Literatura citada

- Acosta, L., y R. Agüero. 2001. El banco de propágulos de malezas en el agroecosistema: conocimiento actual y propuesta metodológica para su estudio. *Agron. Mesoam.* 12(2):141-151. doi:10.15517/AM.V12I2.17226
- Amri, I., M. Hanana., B. Jamoussi, and L. Hamrouni. 2017. Essential oils of *Pinus nigra* J.F. Arnold subsp. *laricio* Maire: Chemical composition and study of their herbicidal potential. *Arab. J. Chem.* 10:S3877-S3882. doi:10.1016/j.arabjc.2014.05.026
- Anaya, A.L., F.J. Espinosa-García, y R. Cruz-Ortega. (ed.). 2001. Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación. Plaza y Valdés, S.A. de C.V., MEX.
- Ballester, A., A.M. Arias., B. Cobián., E. López-Calvo, y E. Vieitez. 1982. Estudio de potenciales alelopáticos originados por *Eucalyptus globulus* Labill, *Pinus pinaster* Ait y *Pinus radiata* D. *Pastos* 12(2):239-254.
- Belz, R.G., and S.O. Duke. 2014. Herbicides and plant hormones. *Pest Manag. Sci.* 70:698-707. doi:10.1002/ps.3726
- Chobot, V., and F. Hadacek. 2009. Milieu-dependent pro- and antioxidant activity of juglone may explain linear and nonlinear effects on seedling development. *J. Chem. Ecol.* 35:383-390. doi:10.1007/s10886-009-9609-5
- Dayan, F.E., D.K. Owens, and S.O. Duke. 2012. Rationale for a natural products approach to herbicide discovery. *Pest Manag. Sci.* 68:519-528. doi:10.1002/ps.2332
- Duke, S.O., N. Cedergreen, E.D. Velini, and R.G. Belz. 2006. Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks Pest Manag.* 17(1):29-33. doi:10.1564/16feb10
- Hernández, E.A., y R. Álvarez. 2008. Uso de los extractos acuosos del pino macho (*Pinus caribaea* Morelet) en el control de las malezas en cafetales bajo sombra. Presentado en: VI Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), y Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV), La Habana, CUB. 22-29 de septiembre.
- Jiménez-Ferrer, L., D. Valdés-Zayas, y R. Álvarez-Puentes. 2006. Efecto alelopático de *Pinus caribaea* en la germinación de arvenses en casas de cultivo protegido. *Centro Agríc.* 33(4):79-84.
- Sánchez, M., M. Arienzo, Sánchez M.J., and T. Crisanto. 1995. Effect of different surfactants on the mobility of selected non-ionic pesticides in soil. *Chemosphere* 31:3793-3801. doi:10.1016/0045-6535(95)00253-5
- Revista Vinculando. 2008. Efectos alelopáticos de extractos acuosos del Pino Macho (*Pinus caribaea* Morelet) sobre las malezas en cafetales bajo sombra. *Revista Vinculando*, CUB. http://vinculando.org/articulos/sociedad_america_latinal/efectos_alelopaticos_de_extractos_acuosos_del_pino_macho.html#vcite (consultado 26 may. 2020)
- Skat orgánico. s.f. Riso-fort. Skat LTDA, Santiago, CHI. <http://www.skatlimitada.cl/> (consultado 26 may. 2020)

- Tao, Q., S. Dong, X. Hong, and T. Wang. 2006. Effect of surfactants at low concentrations on the sorption of atrazine by natural sediment. *Water Environ. Res.* 78:653-660. doi:10.2175/106143006x115886
- Undabeytia, T., E. Recio, C. Maqueda, E. Morillo, E. Gómez, and T. Sánchez. 2010. Reduced metribuzin pollution with phosphatidylcholine–clay formulations. *Pest Manag. Sci.* 67:271-278. doi:10.1002/ps.2060
- Wilt, F.M., G.C. Miller, and R.L. Everett. 1993. Measurement of monoterpene hydrocarbon levels in vapor phase surrounding single-leaf pinyon (*Pinus monophylla* Torr. & Frem.: Pinaceae) understory litter. *J. Chem. Ecol.* 19:1417-1428. doi:10.1007/BF00984886