

## RESPUESTA DE *PINUS PINEA* AL HERBICIDA HEXAZINONA

M. VILLARROYA\*, M.C. CHUECA\*, G. MONTERO\*\* & J.M. GARCIA-BAUDIN\*

\* AREA DE PROTECCION VEGETAL. CIT-INIA. CARRETERA DE LA CORUÑA KM. 7. 28040-MADRID.

\*\* AREA DE SELVICULTURA Y MEJORA FORESTAL. CIFOR-INIA. CARRETERA DE LA CORUÑA KM. 7. 28040-MADRID.

### RESUMEN

Se estudia la respuesta del *Pinus pinea* a la hexazinona, midiendo la inhibición del Fotosistema II producida por éste herbicida, mediante la determinación de la respuesta por fluorescencia clorofílica sobre hoja entera.

La destoxificación del herbicida en la planta, nos señala la tolerancia del *Pinus pinea* a la hexazinona.

P.C.: *Pinus pinea*, Hexazinona, Herbicidas, Fluorescencia.

### SUMMARY

*Pinus pinea* response to hexazinone was studied, measuring herbicide photosystem II inhibition, by means of the determination of the whole leaf chlorophyll fluorescence response.

The detoxification of the herbicide in the plant points out the tolerance of *Pinus pinea* to hexazinone.

K.W.: *Pinus pinea*, Hexazinone, Herbicides, Fluorescence.

### INTRODUCCION

El pino piñonero (*Pinus pinea* L.), es una conífera típica del área mediterránea, cubriendo en España una superficie de alrededor de 460.000 Has. (CEBALLOS, 1966). Esta especie bien adaptada en nuestro país, es susceptible de ser empleada en la forestación de tierras agrícolas, programa prioritario en la Unión Europea, para la disminución de superficie agrícola, transformando éstas en superficies arbóreas.

Uno de los problemas de la implantación de especies arbóreas en las tierras agrícolas abandonadas es la competición de las malas hierbas establecidas en estos cultivos, con las especies arbóreas, principalmente en los primeros años de su desarrollo (FROCHOT y TRICHET, 1988; SOUTH et al., 1993; LANER et al., 1993; MORRIS et al., 1994).

Los problemas que puede presentar la escarda mecánica en gran parte de estas superficies en nuestro país, debido fundamentalmente a problemas de erosión, hacen necesario la utilización de herbicidas para el control de las malas hierbas.

Entre los herbicidas susceptibles de empleo en los pinos, tenemos algunos del grupo de las triazinas, como la hexazinona, simazina y terbutilazina, los cuales tienen un gran interés en estas coníferas, debido al control que ejercen en un amplio espectro de malas hierbas, así como a una persistencia adecuada para defender a estas especies, especialmente en las épocas estivales de sus primeros años de desarrollo, épocas en que en nuestro país puede existir una

agravación de la competitividad malas hierbas-pinos, debido a los estres hídricos que se producen.

La hexazinona es el único de este grupo que está registrado en España para su utilización en especies del género *Pinus*, y cuya eficacia está señalada en distintos países (ALM y WHORTON, 1988; BALNEAVES y CHRISTIE, 1988; FAGG et al., 1988; WILKINSON et al., 1992), existiendo en nuestro país ensayos preliminares en que se ha observado la eficacia de este herbicida en *Pinus silvestris* (OCAÑA et al., 1994).

El desconocimiento de la respuesta de *Pinus pinea* L. a este herbicida, nos ha movido a abordar este problema mediante la utilización de la fluorescencia clorofílica sobre hoja entera, método señalado para medir la diferente sensibilidad de diferentes especies vegetales a herbicidas inhibidores de la fotosíntesis, como es el caso de las triazinas (DUCRUET y GASQUEZ, 1978).

## MATERIAL Y METODOS

El material vegetal utilizado son jóvenes plántulas de pino piñonero (*Pinus pinea* L.).

Jóvenes plántulas con los cotiledones ya formados, se colocan en rejillas de plástico sobre tubos forrados con cartulina negra, de 2,3 cms de diametro y 24,5 cms de altura, conteniendo 90 ml de solución nutritiva Hewitt (BOULD y HEWITT, 1963). El nivel de la solución se mantiene constante, a nivel de la rejilla soporte, a lo largo del ensayo.

La solución nutritiva se sustituye, cuando comienza el crecimiento de las hojas verdaderas de la planta, por una solución análoga conteniendo hexazinona, a dosis de 2 y 4 ppm, durante 24 y 48 horas. Al final del tratamiento, se quita la solución con herbicida, se lavan las raíces y se restablece la solución nutritiva libre de herbicida.

Cada tratamiento consta de una plántula por tubo de ensayo, realizándose seis repeticiones por tratamiento. Asimismo, se realiza un ensayo control sin tratamiento herbicida con las mismas condiciones.

Las plántulas se mantienen en cámara climática, con un fotoperiodo de 16 h, a  $24\pm 1^\circ\text{C}$  (luz) y 8 h, a  $16\pm 1^\circ\text{C}$  (oscuridad), con una humedad relativa entre el 50% (luz) al 70% (oscuridad) y una intensidad luminosa de  $100\ \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

La toma de registros de fluorescencia se inicia al finalizar el tratamiento herbicida ( $T=0$ ), tras someter las plantas a 1 hora de oscuridad a fin de conseguir que todos los centros fotosintéticos estén relajados, así como 1, 3, 5, 7, 10 y 12 días después de finalizar éste, utilizándose un detector Hansatech LD1 asociado a un programa de ordenador similar al descrito por DUCRUET et al., (1984).

La estimación de la inhibición producida por el herbicida se determina mediante la relación FI-FO/FV, señalada por DUCRUET et al., (1984), siendo FO el nivel de fluorescencia emitido al comienzo de la excitación, cuando todos los centros fotosintéticos están relajados, FI el nivel obtenido en un tiempo prefijado después de la apertura del obturador y FV la amplitud de la variable, es decir, la diferencia entre fluorescencia máxima (FP) y la emitida al comienzo de la excitación (FO).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1, se observa que, a dosis de 2ppm de hexazinona y en tratamientos de 24 horas del herbicida, las medidas de fluorescencia obtenidas inmediatamente después de la retirada de éste ( $T=0$ ), son alrededor de 2,5 veces superiores a los de las plantas testigo, lo que podemos considerar como una inhibición media producida por éste herbicida. Esta inhibición no es

homogénea en todas las plantas estudiadas, encontrándose plantas con un efecto de 3,4 veces superior a los testigos, con otras en las que en la función fotosintética no se observa inhibición alguna. En las plantas en las que se encuentra inhibida por el herbicida, se produce una destoxicación a lo largo del ensayo, llegando, el día 12 después de finalizado el tratamiento, a un 70% de las plantas que no presenta inhibición alguna y un 30% que presenta una ligera inhibición.

El tratamiento de 48 horas del herbicida, a la misma dosis de 2 ppm de hexazinona, se observa en T=0 un efecto semejante, efecto que incrementa un día después, en donde encontramos que las medidas de fluorescencia son tres veces superiores a las registradas en los testigos. Esta inhibición, homogénea, en las plantas estudiadas, va paulatinamente desapareciendo a lo largo del ensayo, observando al final de éste (T=12) que el 60% de las plantas presenta una inhibición similar a la de los testigos, y el resto con ligeras inhibiciones producidas por la hexazinona.

A las dosis de 4 ppm de hexazinona, en el tratamiento de 24 horas, se observa una fuerte inhibición en las plantas estudiadas, con unas medidas de la fluorescencia de alrededor de 3 veces y media superior a las de las plantas testigo, destoxificándose el herbicida en las plantas a lo largo del ensayo, encontrándose a final de éste las plantas tratadas semejantes a las testigo. La inhibición inicial producida por este tratamiento es muy homogénea, como asimismo la destoxicación del herbicida al final del ensayo (Tabla 1). Análogamente en tratamientos de 48 horas con esta misma dosis, nos encontramos con una inhibición inicial en las plantas análoga a la producida en los tratamientos de 24 horas, con una destoxicación a lo largo del ensayo, no llegando a destoxicarse totalmente el herbicida al final de éste (Tabla 1).

Diferentes autores han señalado la diferente sensibilidad de las plantas a herbicidas inhibidores de la fotosíntesis, midiendo la inhibición del Fotosistema II en las hojas, considerándose que en las tolerantes se producía una inhibición inicial producida por el herbicida, seguida de una destoxicación de éste, más o menos rápida dependiendo del mayor o menor grado de tolerancia, en contraposición de las sensibles, en las que no se producía dicha destoxicación.

La medida de la inhibición del Fotosistema II para determinar tolerancias o susceptibilidades de plantas a herbicidas inhibidores de la fotosíntesis, se ha utilizado en diferentes especies, en relación al clortolurón, ya sean cultivos, como el trigo blando (*Triticum aestivum* L.) (VAN LEEUWEN y VAN OORSCHOT, 1976; SIXTO y GARCIA-BAUDIN, 1988), trigo duro (*Triticum durum* L.) (CHUECA et al., 1994) y triticale (SIXTO et al., 1993).

Análogamente se ha estudiado la respuesta de algunas especies a otros inhibidores de la fotosíntesis como triazinas y triazinonas, entre las que podemos señalar, el *Silybum marianum*, a la atrazina (CADAHIA et al., 1985), *Triticum durum* L., a metribuzina (DUCRUET et al., 1993) y a etiozina (GARCIA-VALCARCEL et al., 1994).

Los resultados obtenidos en el *Pinus pinea*, en relación con la hexazinona se corresponden con lo observado por los autores señalados, por lo que se puede considerar la tolerancia del *Pinus pinea* a la hexazinona, y que dicha tolerancia se debe a la destoxicación del herbicida en la planta.

## BIBLIOGRAFIA

ALM, A.A. & WHORTON, J.M. (1988). Liquid Hexazinone application over Red Pine Seedlings. *North. J. Appl. For.* 5(1): 61-64.

BALNEAVES, J. & CHRISTIE, M. (1988). Long-term growth response of radiata pine to herbaceous weed control at establishment. *N. Z. For.*: 24-25.

BOULD, C. & HEWITT, E.J. (1963). Mineral nutrition of plants in soils and in culture media. In: F.C. Steward (ed.), *A treatise of plant physiology* 3: 15-133. Academic Press. New York, London.

CADAHIA, E.; LANSAC, A.R.; GARCIA-BAUDIN, J.M. & AGUIRRE, R. (1985). Utilización de la fluorescencia clorofílica para la determinación de la resistencia del *Silybum marianum* (L.) Gaertn, a la atrazina. *An. INIA. Ser. Agr.* 28: 323-331.

CEBALLOS, L. (1966). Mapa Forestal de España. Ministerio de Agricultura. Madrid.

CHUECA, M.C.; SIXTO, H.; MATIENZO, T.; TADEO, J.L. & GARCIA-BAUDIN, J.M. (1994). Selectividad al clortolurón en *Triticum durum*. L. En: J.M. García-Baudín; A. Garrido & R. Jimenez-Díaz (eds.), *La Protección Vegetal en España*. 2: 153-160. Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.. M.A.P.A.. Madrid.

DUCRUET, J.M.; GAILLARDON, P. & VIENOT, J. (1984). Use of Chlorophyll Fluorescence Induction Kinetics to Study Translocation and Detoxication of DCMU-Type Herbicides in Plant Leaves. *Z. Naturforsch.* 39c: 354-358.

DUCRUET, J.M. & GASQUEZ, J. (1978). Observation de la fluorescence sur feuille entière et mise en evidence de la resistance chloroplastique à l'atrazine chez *Chenopodium album* L. et *Poa annua* L.. *Chemosphere* 8: 691-696.

DUCRUET, J.M.; SIXTO, H. & GARCIA-BAUDIN, J.M. (1993). Using Chlorophyll Fluorescence Induction for a Quantitative Detoxification Assay with Metribuzin and Chlorotoluron in Excised Wheat (*Triticum aestivum* and *Triticum durum*) Leaves. *Pestic. Sci.* 38: 295-301.

FAGG, P.C.; FLINN, D.W. & HEPWORTH, G. (1988). Spot-spraying of hexazinone and amitrole/atrazine in the establishment of first and second rotations of *Pinus radiata* in south-western Victoria. *Plant Prot. Quat.* 3(2): 74-77.

FROCHOT, H. & TRICHET, P. (1988). Influence de la compétition herbacée sur la croissance de jeunes pins sylvestres. VIII<sup>ème</sup> Coll. Int. Biologie, Ecologie, Systématique Mauvaises Herbes: 509-516. Dijon (Francia).

GARCIA-VALCARCEL, A.; VILLARROYA, M.; CHUECA, M.C.; TADEO, J.L. & GARCIA-BAUDIN, J.M. (1994). Selectivity of SMY 1500 (4-amino-6-tert-butyl-3-ethylthio-1,2,4, triazin-5(4H)-one) in *Triticum durum*. *Pestic. Sci.* 41: 117-120.

LANER, D.K.; GLOVER, G.R. & SJEUSTAD, D.H. (1993). Comparison of duration and method of herbaceous weed control on loblolly pine response through midrotation. *Can. J. For. Res.* 23: 2116-2125.

MORRIS, L.A.; MOSS, S.A. & GARBETT, W.S. (1994). Competitive Interference Between Selected Herbaceous and Woody Plants and *Pinus taeda* L. During Two Growing Seasons Following Planting. *For. Sci.* 39(1): 166-189.

OCAÑA, L.; PEÑUELAS, J.L.; REVILLA, I. & DOMINGUEZ, S. (1994). Primeras experiencias sobre el control de la competencia herbacea en repoblaciones de terrenos agrícolas abandonados. *Phytoma España* 64: 16-18.

SIXTO, H. & GARCIA-BAUDIN, J.M. (1988). Diferente respuesta a los herbicidas clortolurón e isoproturón en tres cultivares de trigo blando. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 3(2): 243-253.

SIXTO, H.; MUÑOZ, N.; CHUECA, M.C. & GARCIA-BAUDIN, J.M. (1993). Variabilidad en la respuesta al clortolurón de los cultivares de triticale "Tajuña" y "Badiel". *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 8(2): 171-177.

SOUTH, D.B.; ZWOLINSKI, J.B. & DONALD, D.G.M. (1993). Interactions among seedling diameter grade, weed control and soil cultivation for *Pinus radiata* in South Africa. *Can. J. For. Res.* 23: 2078-2082.

VAN LEEUWEN, P.H. & VAN OORSCHOT, J.L.P. (1976). Effects of some phenylurea herbicides on photosynthesis of two wheat varieties. *Weed Res.* 16: 11-14.

WILKINSON, G.R.; NEILSEN, W.A. & EDWARDS, L.G. (1992). Hexazinone use for grass and woody weed control-effects on establishment and long-term growth of *Pinus radiata* plantations. *N. Z. J. For. Sci.* 22(1): 12-23.

Tiempo tratamiento (horas)	Dosis (ppm)	Días después del tratamiento										
		0	1	3	5	7	10	12				
24	2	0,51±0,18	0,56±0,18	0,58±0,17	0,44±0,15	0,40±0,14	0,38±0,13	0,31±0,11				
	4	0,72±0,03	0,73±0,08	0,59±0,10	0,47±0,14	0,41±0,07	0,36±0,07	0,25±0,03				
48	2	0,51±0,04	0,71±0,09	0,56±0,06	0,54±0,10	0,46±0,06	0,51±0,11	0,32±0,08				
	4	0,73±0,08	0,73±0,11	0,63±0,15	0,55±0,14	0,46±0,16	0,44±0,08	0,37±0,04				
Control	0	0,21±0,05	0,24±0,02	0,21±0,04	0,23±0,02	0,24±0,04	0,21±0,02	0,23±0,02				

Los valores son medias de seis repeticiones.

TABLA 1. INHIBICION DEL FOTOSISTEMA II EN HOJAS DE PINUS PINEA L. TRATADAS 24 Y 48 h. CON HEXAZINONA