

Efecto fitotóxico de extractos de *Ageratum conyzoides* L. sobre la germinación y el crecimiento inicial de moriseco (*Bidens pilosa* L.), zacate de ratón (*Poa annua* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) en invernadero

Alicia Zumbado Rodríguez

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA AGRÓNOMA
CON EL GRADO DE LICENCIADA EN AGRONOMÍA

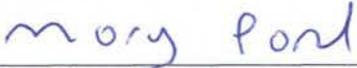
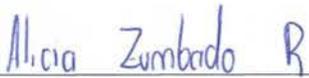
Universidad de Costa Rica
Facultad de Ciencias Agroalimentarias
Escuela de Agronomía

2023

Efecto fitotóxico de extractos de *Ageratum conyzoides* L. sobre la germinación y el crecimiento inicial de moriseco (*Bidens pilosa* L.), zacate de ratón (*Poa annua* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) en invernadero

Alicia Zumbado Rodríguez

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERA AGRÓNOMA
CON EL GRADO DE LICENCIADA EN AGRONOMÍA

 _____ Mary Pamela Portuguez García, Lic.	Directora de tesis
 _____ Renan Agüero Alvarado, Ph. D.	Miembro del tribunal
 _____ Andrés Monge Vargas, Ph. D.	Miembro del tribunal
 _____ Franklin Herrera Murillo, Ph. D.	Miembro del tribunal
 _____ Luis Gómez Alpizar, Ph. D.	Director de escuela
 _____ Alicia Zumbado Rodríguez	Sustentante

Agradecimientos

Agradezco inmensamente a mi familia por el apoyo durante todos mis procesos porque gracias a su apoyo y amor incondicional he alcanzado las metas que me he propuesto. Agradezco a mis amigos por estar presentes en mi vida y brindarme palabras de apoyo, su compañía y cariño durante tanto tiempo.

Índice

1	Introducción	1
2	Revisión de literatura.....	4
2.1	<i>Ageratum conyzoides</i> L. y los estudios sobre alelopatía	4
2.2	Factores que influyen en la respuesta de los extractos botánicos	5
2.3	Especies indicadoras	6
2.3.1	<i>Bidens pilosa</i> L	6
2.3.2	<i>Poa annua</i> L	7
2.3.3	Arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	7
2.3.4	Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.).....	8
3	Metodología	9
3.1	Localización del experimento	9
3.2	Material experimental.....	9
3.3	Procedimiento general.....	9
3.3.1	Pruebas de germinación.....	9
3.3.2	Prueba de tetrazolio	10
3.3.3	Preparación y aplicación de los extractos.....	11
3.3.4	Aplicación de los extractos.....	12
3.4	Variables evaluadas.....	12
	Diseño experimental	13
3.5	Análisis estadístico de datos	13
4	Resultados.....	14
4.1	Prueba de germinación y viabilidad.	14
4.2	Germinación.....	16
4.3	Longitud radical y aérea	19
4.4	Biomasa	21
5	Discusión	23
6	Conclusiones	26
7	Recomendaciones.....	26

8	Bibliografía.....	27
9	Anexos.....	35

Índice de cuadros

Cuadro 1.	Metodología de extracción y concentración de <i>Ageratum conyzoides</i> utilizados en el experimento Sub-Estación Experimental Fraijanes, marzo del 2022.	12
Cuadro 2.	Porcentaje de germinación promedio de <i>Bidens pilosa</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Oryza sativa</i> y <i>Poa annua</i> luego de aplicar los tratamientos pre germinativos evaluado a los 22 días después de siembra, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Febrero, 2022.....	14
Cuadro 3.	Porcentaje de germinación a los 22 días después de siembra y viabilidad al realizar una prueba de tetrazolio, en las especies indicadoras en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Febrero, 2022.	15
Cuadro 4.	Probabilidades asociadas a la prueba de comparación de promedios de las dosis por separado, para cada método de extracción de <i>Ageratum conyzoides</i> sobre la germinación de <i>Bidens pilosa</i> , <i>Cucumis sativus</i> , <i>Poa annua</i> y <i>Oryza sativa</i> a los ocho y 15 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-estación Fraijanes. Marzo, 2022.....	16
Cuadro 5.	Razones de ventaja entre las diferentes dosis de la no germinación en <i>Cucumis sativus</i> L. por extracto, a los ocho días después de la aplicación de los tratamientos. Sub-estación Fraijanes. Marzo del 2022.....	17
Cuadro 6.	Razón de ventaja de la no germinación en <i>Cucumis sativus</i> L. al aplicar los extractos fresco y seco, evaluado a los 15 días después de aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo 2022.....	17
Cuadro 7.	Razón de ventaja de la no germinación en <i>Bidens pilosa</i> L. al aplicar el extracto fresco evaluado a los 15 días después de la aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.....	18
Cuadro 8.	Razón de ventaja de la no germinación en <i>Oryza sativa</i> L. al aplicar el extracto seco, evaluado a los 15 días después de la aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo. 2022.....	18

Cuadro 9. Razón de ventaja de la no germinación en <i>Poa annua</i> L. al aplicar el extracto seco, evaluado a los 15 días después de aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo. 2022.....	19
Cuadro 10. Probabilidades asociadas a los efectos de la dosis y el extracto sobre la longitud aérea de las especies <i>B. pilosa</i> , <i>C. sativus</i> y <i>O. sativa</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo 2022.....	19
Cuadro 11. Longitud radical y aérea promedio por extracto de <i>O. sativa</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.	20
Cuadro 12. Longitud radical y aérea promedio por extracto y dosis de <i>B. pilosa</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022. ...	20
Cuadro 13. Longitud radical y aérea promedio por extracto y dosis de <i>C. sativus</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022. ...	21
Cuadro 14. Probabilidades asociadas al efecto de la dosis y el extracto sobre la biomasa de las especies <i>B. pilosa</i> , <i>C. sativus</i> y <i>O. sativa</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.....	21
Cuadro 15. Biomasa promedio por extracto de <i>B. pilosa</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.....	22
Cuadro 16. Peso fresco promedio por extracto y dosis de <i>C. sativus</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.	22
Cuadro 17. Peso seco promedio por dosis de <i>C. sativus</i> a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.....	22

Índice de figuras

Figura 1. Coloración adquirida por las semillas viables después de la prueba de tetrazolio en las especies a) <i>Bidens pilosa</i> , b) <i>Poa annua</i> , c) <i>Cucumis sativus</i> y d) <i>Oryza sativa</i> . observado en el microscopio Dino Lite con un rango de lentes de (10X- 230 X). Estación Experimental Fabio Baudrit. Septiembre, 2022.....	15
---	----

Índice de anexos

Anexo 1. Resultado de la clase textural del suelo en el que se realizó la siembra de las especies del experimento, Sub-estación Fraijanes.	35
Anexo 2. Resultado de la relación C/N y la conductividad eléctrica (CE) del suelo en el que se realizó la siembra de las especies del experimento, Sub-Estación Fraijanes.	35
Anexo 3. Temperatura (°C) diurna y nocturna en el invernadero de la Sub-Estación Fraijanes durante el desarrollo del experimento. Marzo 2022.....	36
Anexo 4. Humedad relativa diurna y nocturna en el invernadero de la Sub-Estación Fraijanes durante el desarrollo del experimento. Marzo 2022.....	36

Resumen

Ageratum conyzoides L. es una arvense considerada como especie invasora; a pesar de ello, se han realizado estudios en los que se ha determinado su potencial alelopático. Considerando que algunas arvenses han generado resistencia a herbicidas por su uso inadecuado, los extractos alelopáticos ofrecen una alternativa potencial al control convencional de estas especies, sin embargo, los resultados varían de acuerdo con la dosis empleada, el método de extracción y la especie que se desea controlar. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto fitotóxico de extractos de *A. conyzoides* L. sobre la germinación y el crecimiento inicial de las arvenses *Bidens pilosa* L., *Poa annua* L. y los cultivos *Cucumis sativus* L., y *Oryza sativa*. Se probaron extractos frescos y extractos secos a partir de hojas de *A. conyzoides*, cada uno de ellos se preparó en dosis de 100 %, 50 % y 25 % p/v y fueron aplicados en preemergencia sobre las especies de arvenses y cultivos seleccionados. Los resultados obtenidos sugieren que los extractos alelopáticos de *A. conyzoides* no tienen un efecto inhibitorio sobre la germinación de *P. annua* al contrario ocasionaron una mayor germinación al aplicar las dosis de 25 % y 50 % p/v del extracto seco. Por otro lado, en *B. pilosa* el extracto fresco demostró ser eficiente en la inhibición de la germinación en la dosis de 50 % p/v, este a su vez ocasionó una menor longitud radical y biomasa. En *O. sativa* al emplear ambos extractos no hubo efecto inhibitorio de la germinación al compararlo con el testigo. Sin embargo, el extracto fresco ocasionó una menor longitud radical y aérea que el extracto seco. Ambos extractos presentaron selectividad a *C. sativus* ya que ninguno ocasionó efecto inhibitorio de la germinación y las demás variables evaluadas.

1 Introducción

Las arvenses como el zacate de ratón (*Poa annua* L.), y moriseco (*Biden pilosa* L.) presentan resistencia a herbicidas, lo cual dificulta su manejo agronómico (Flessner et al., 2013). En el caso de *B. pilosa* es resistente en los siguientes sitios de acción: inhibidores de la ALS, inhibidores del PSII-aglutinantes de serina 264, inhibidores del fotosistema I e inhibidores de la 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSP sintasa) (Alcántara de la Cruz et al., 2016; Santos & Cury., 2011). Mientras que a nivel mundial *P. annua* presenta resistencia en múltiples sitios de acción (Bousalis., 2017), específicamente en Costa Rica, se reportó un caso de resistencia al herbicida cletodim (Rodríguez et al., 2015).

La resistencia a herbicidas sintéticos representa un reto para el combate de las arvenses, por lo que es necesario buscar nuevas alternativas de manejo agronómico (Rahaman et al., 2021). En este sentido, la producción de compuestos alelopáticos de algunas plantas podría constituir una alternativa al uso de herbicidas sintéticos, los cuales presentan limitaciones ya que además de la resistencia de arvenses en múltiples sitios de acción (Délye et al., 2013), también se indica la persistencia en el ambiente y la contaminación por su uso inadecuado (Bajwa et al., 2015). La alelopatía es un proceso bioquímico que involucra metabolitos secundarios, producidos por plantas, algas, bacterias y hongos, y puede ocasionar diversos efectos sobre las plantas receptoras (Macías et al., 2000). En el caso específico de las plantas, las donadoras pueden ocasionar: la inhibición de la germinación, del crecimiento, del desarrollo, la reproducción y la liberación de metabolitos secundarios en las plantas receptoras (Bachheti et al., 2019).

El empleo de extractos de plantas con propiedades alelopáticas ha demostrado ser eficiente para el control de arvenses (Kamran et al., 2017); entre los efectos que ocasionan los extractos es que pueden afectar negativamente la germinación en algunas especies, además, ciertos compuestos responsables de la alelopatía son solubles en agua (Macías et al., 2019), lo cual facilita su extracción y aplicación. Sin embargo, es necesario realizar estudios más detallados para determinar las dosis adecuadas y la selección de las partes de las plantas que produzcan el efecto deseado (Hierro & Callaway., 2021).

Entre las plantas con potencial alelopático presentes en Costa Rica se encuentra *A. conyzoides* L. (Valverde, 2015) la cual posee efectos inhibitorios sobre la germinación de arroz (Batish et al., 2009), rábano, tomate, frijol y raigrás, sin embargo, su efecto varía dependiendo de los factores ambientales y la fenología del cultivo (Yadav et al., 2019). Entre las ventajas que presenta *A. conyzoides* están que posee una amplia distribución en cultivos y pastos, su germinación no presenta latencia, germina bajo temperaturas entre los 15-30 ° C y puede completar su ciclo en menos de dos meses (Vélez-Gavilán., 2016). Estas características, muestran que *A. conyzoides* es una especie con potencial para realizar experimentos de alelopatía mediante extractos acuosos, sin embargo, es necesario realizar estudios que demuestren su eficacia para la inhibición de la germinación de arvenses y el efecto que ocasiona sobre los cultivos ya que este varía dependiendo de la especie (Okunade, 2022). Una de las ventajas de los extractos acuosos es que requiere un menor tiempo para su elaboración (Wong-Paz et al., 2020).

Con el fin de conocer los efectos de los extractos y determinar la eficacia de *A. conyzoides*, es necesario realizar la ejecución de ensayos, tanto en las arvenses de interés, como en los cultivos. Para efectos de este estudio se escogieron dos arvenses de interés y dos cultivos contrastantes el pepino (*Cucumis sativus* L.) y el arroz (*Oryza sativa* L.) el cual tiene una gran importancia alimentaria a nivel mundial, además, ambos han sido ampliamente estudiados por su valor nutricional y consumo (Shah et al., 2020; Zhang et al., 2019). Se buscó determinar si el tipo de extracto y la dosis tienen un efecto nocivo sobre las arvenses y posible selectividad a los cultivos seleccionados, en particular el arroz, ya que, se ha demostrado que al aplicar directamente los metabolitos secundarios presentes en *A. conyzoides* estos pueden afectar el arroz reduciendo su porcentaje de germinación (Batish et al., 2009).

Objetivo general

1. Determinar el efecto fitotóxico de extractos de la arvense *Ageratum conyzoides* L. sobre la germinación y el crecimiento inicial de *Bidens pilosa* L., *Poa annua* L., arroz (*Oryza sativa* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.) en invernadero.

Objetivos específicos

1. Seleccionar la concentración de extracto más eficiente para el control de las arvenses *Bidens pilosa* L. y *Poa annua* L. en aplicación preemergente.
2. Establecer el grado de selectividad de las dosis de extractos de *Ageratum conyzoides* sobre los cultivos *Cucumis sativus* L. y *Oryza sativa* L. en aplicación preemergente.
3. Determinar si el efecto de las dosis de extractos de *Ageratum conyzoides* se da por igual en dos formas de extracción sobre la germinación de *Bidens pilosa* L., *Cucumis sativus* L., *Oryza sativa* L., y *Poa annua* L.

2 Revisión de literatura

La santa lucía (*A. conyzoides*) pertenece a la familia Asteraceae. Es una arvense anual reportada como especie invasora y nociva en tierras agrícolas, posee un alto riesgo de introducción, crece en pastizales, bosques, terrenos baldíos, claros, y se distribuye frecuentemente (Vélez-Gavilán., 2016) en África, Asia y América (Yadav et al., 2019).

En cuanto a su morfología, tiene tallos simples o ramificados, de color rojizo a verde, con pelos blancos o amarillentos, posee hojas opuestas con peciolo de 0,6 a 3,5 mm de largo, con margen crenado, una inflorescencia terminal con 5 a 15 cabezuelas dispuestas en agregados compactos o laxos, la cabezuela está conformada por 75 flores sésiles dispuestas sobre un receptáculo cónico, su fruto es un aquenio en forma de prisma y la raíz fibrosa y pivotante (Fernandes, 2021).

2.1 Estudios de la alelopatía en *Ageratum conyzoides* L.

En estudios acerca de las propiedades alelopáticas de *A. conyzoides* se determinaron los metabolitos secundarios que promueven las respuestas alelopáticas. Entre los compuestos encontrados están: los alcaloides, los flavonoides, las saponinas y los taninos que ocasionan estrés oxidativo sobre las plantas por la presencia de especies reactivas del oxígeno (Javaid et al., 2020). También se reportaron compuestos fenólicos, entre los cuales están: la catequina, las cumarinas (Macías et al., 2019) y los ácidos cuálico, comalálico, cumálico, gálico, protocatecuico, salicílico, p-hidroxibenzoico, (Batish et al., 2009).

La mayor concentración de los metabolitos secundarios presentes en *A. conyzoides*, se encuentran en las hojas (Xuan et al., 2004), algunos de estos compuestos son selectivos afectando plantas específicas (Izhaki., 2002) y otros no lo son, pues generan efectos en las plantas receptoras por igual (Macías et al., 2019). Entre los efectos que pueden ocasionar sobre las plantas está la inhibición de la germinación (Macías et al., 2019). Esta respuesta inhibitoria se puede dar debido a cambios en las propiedades físicas y químicas del suelo influenciados por la exudación de aleloquímicos los cuales propician el desarrollo de

bacterias específicas que pueden influir en la germinación de las especies (Akter & Islam., 2019), sin embargo, no hay reportes acerca de los mecanismos fisiológicos que ocasionan tal respuesta (Ambika., 2013), debido a que muchos estudios que se han realizado con extractos alelopáticos se enfocan en el efecto que ocasionan estos sobre la especie objetivo, sin indagar las razones fisiológicas que están involucradas estas respuestas (Kremer et al., 2020).

Específicamente, los flavonoides presentes en *A. conyzoides* poseen efecto inhibitorio de la germinación, y estos compuestos están presentes en la vacuola (Macías et al., 2019). En *A. conyzoides*, se han identificado como responsables de este efecto: los flavonoides llamados precoceno I y precoceno II (Yadav et al., 2019) y ageratocromo, este último demostró tener efecto herbicida al inhibir el desarrollo de especies como: *B. pilosa.*, *Digitaria sanguinalis* L, *Cyperus difformis* L. (Kong et al., 2004).

Por último, la aplicación de extractos de *A. conyzoides*, ha demostrado que puede ocasionar la disminución en la altura, biomasa y clorofila de soya (Batish et al., 2009). Y también ocasionó la inhibición del 100 % de la germinación de *Parthenium hysterophorus* L. al aplicar extractos de hojas y tallos con una concentración al 10 % p/v (Javaid et al., 2020).

2.2 Factores que influyen en la respuesta de los extractos botánicos

Los resultados de los estudios de plantas con propiedades alelopáticas están influenciados por distintos factores como: el método de extracción, el estado fenológico de las plantas (Kalisz et al., 2021), el tamaño y la permeabilidad de las semillas de la especie en la que se emplean los extractos biológicamente activos (Caser et al., 2020) así como las interacciones en el suelo y las condiciones ambientales (Birkett et al., 2001).

Para realizar la extracción de compuestos biológicamente activos en materiales vegetales existen diversos métodos de extracción y la eficacia varía con cada especie (Abaza et al., 2011). Entre las metodologías están la maceración, las extracciones con solventes, ultrasonidos o microondas (Findura et al., 2020).

Entre los factores que están involucrados en la eficiencia de la extracción, se encuentran: el pH, el solvente empleado, la temperatura, el tamaño de las partículas en la muestra (Abaza et al., 2011), así como el tiempo empleado en la extracción, ya que este influye en la cantidad de fenoles y otros compuestos presentes, puesto que permite el ingreso del solvente a las células lo cual determina la eficacia del proceso de extracción (Pinchao-Pinchao et al., 2019). Sin embargo, también se debe considerar el costo de la metodología de extracción elegida. En el caso de *A. conyzoides* posee compuestos solubles en agua (Bajwa et al., 2015), lo cual permite emplear metodologías de extracción más sencillas, a un menor costo.

Una vez que los metabolitos secundarios presentes en los extractos son aplicados en el suelo, sufren de una serie de interacciones, entre las cuales se pueden mencionar la lixiviación, solubilización, degradación y metabolización por parte de microorganismos los cuales son procesos que pueden influir en su eficacia para el control de arvenses (Pardo et al., 2020). Existe poca información acerca de las interacciones que se dan en el suelo y la presencia de dos o más compuestos biológicamente activos (Burns et al., 2013). A su vez, las respuestas de estas interacciones pueden ser aditivas, sinérgicas o antagonistas, y dependen de la concentración de los aleloquímicos presentes en los extractos aplicados (Pardo-Muras et al., 2022).

2.3 Especies indicadoras

Las especies indicadoras se emplean con el fin de medir el efecto de la aplicación de un tratamiento, en este caso la aplicación de extractos acuosos de hojas de *A. conyzoides*.

2.3.1 *Bidens pilosa* L

B. pilosa posee una amplia distribución a nivel mundial, principalmente en zonas templadas, cálidas, subtropicales y tropicales (Bartolome et al., 2013), pertenece a la familia Asteraceae. Esta planta se reporta como una especie importante en más de 40 países en cultivos como: caña de azúcar, maíz, café, té, algodón, papa, plátanos, frijoles, tabaco, soya y cítricos (Rojas-Sandoval, 2018).

B. pilosa posee un manejo agronómico complejo, debido a que ha generado resistencia en múltiples sitios de acción (Burgos et al., 2016); como estrategia alternativa de control se han realizado pruebas con extractos acuosos de distintas especies. Por ejemplo, la aplicación de extractos naturales de *Brachiaria brizantha* Hochst. ocasionó la disminución de un 56 % de la longitud de los brotes de *B. pilosa*. y los extractos acuosos de *Sorghum bicolor* L. con una concentración de 20 % p/v redujeron en un 64 % la materia seca de *B. pilosa* (Da Silva Oliveira et al., 2019). También se han empleado extractos con etanol de *Baccharis uncinella* DC. al 10 % p/v, el cual inhibió la germinación de *B. pilosa* en un 80 % (Dias et al., 2017). La viabilidad y la germinación de esta arvense disminuyó tras utilizar extractos de *Lantana camara* L. en una concentración de 5 % v/v (Medeiros et al., 2020).

2.3.2 *Poa annua* L

P. annua posee una amplia distribución a nivel mundial, es de las 10 arvenses más estudiadas debido a su difícil control (Mao & Huff, 2012). Entre las principales características de esta arvense se pueden mencionar: su rápida reproducción, alta producción de semillas, alta diversidad intraespecífica y su complejidad para determinar los biotipos (Mao, 2014).

Debido a la importancia de *P. annua* se han realizado ensayos con extractos acuosos para su control con los cuales se ha determinado que la aplicación de extractos acuosos de *Poa pratensis* y *P. annua* redujeron el tamaño de las hojas, la longitud y germinación de *P. annua* (Kóvar et al., 2013). En otro ensayo se comprobó que el extracto de *Thymos mongolicus* L. con una concentración de 50 g/L, inhibió un 68 % de la germinación de esta arvense (Song et al., 2017).

2.3.3 Arroz (*Oryza sativa* L.)

El arroz es uno de los cultivos con mayor importancia, ya que forma parte de la dieta del 50% de la población a nivel mundial (Barreto et al., 2016). En este cultivo, uno de los principales retos es el manejo de las arvenses previo al establecimiento del cultivo (Rao

et al., 2015) puesto que representa pérdidas del rendimiento que pueden llegar de 94 a 96 % (Dass et al., 2017).

Actualmente, para manejar las arvenses presentes en arroz el control se realiza con herbicidas químicos. Sin embargo, esto conlleva algunas limitaciones como la fitotoxicidad en el cultivo si no se aplica la dosis correcta, la presencia de residuos de herbicidas en el suelo y la generación de resistencia de las arvenses a los herbicidas (Dass et al., 2017).

Como parte de las estrategias alternativas para el control de arvenses, se han realizado estudios en los que se aplican extractos biológicamente activos, como: extractos de eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), brassica (*Brassica campestris* L.) y sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) en una concentración 1:10 p/v, los cuales han demostrado ser eficientes para el control de arvenses que afectan el arroz (Khaliq et al., 2013). También se ha determinado que al aplicar extractos acuosos de *Houttuynia cordata* Thunb. se inhibió el crecimiento de arvenses en arrozales de Japón, sin tener efectos negativos sobre las plántulas trasplantadas (Lin et al., 2006).

2.3.4 Pepino (*Cucumis sativus* L.)

El pepino (*C. sativus*) es una de las hortalizas más cultivadas a nivel mundial (Yang et al., 2022) pertenece a la familia de las cucurbitáceas y es ampliamente consumido por sus beneficios nutricionales (Reidah et al., 2012). Es una especie indicadora en estudios de fitotoxicidad y pruebas de germinación (Wang et al., 2001), siendo una especie recomendada por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE) para este tipo de estudios (Wang et al., 2001).

Al realizar la aplicación de extractos acuosos de la raíz de *A. conyzoides*, *Leucas aspera* (Wild) Link., *Scoparia dulcis* L., *Spilanthes acmella* L., y *Vernonia patula* (Dryand) Merr. sobre semillas de pepino (*C. sativus*) se observó un menor porcentaje de germinación, así como una reducción de la longitud de la parte aérea de las plántulas (Akter & Islam., 2019).

3 Metodología

3.1 Localización del experimento

El experimento se llevó a cabo en el invernadero del programa de malezas en la Sub-Estación Fraijanes de la Universidad de Costa Rica, ubicada en la provincia de Alajuela, a 1764 metros de altitud. Posee una precipitación anual de, 3150 mm, un 80% de humedad atmosférica y una temperatura promedio del aire de 16,1 ° C (Chaves et al., 2014). Durante el desarrollo del experimento en promedio la temperatura diurna fue de 24 ° C y la temperatura nocturna se mantuvo en promedio en 16 ° C (Anexo 7). La humedad relativa diurna fue de 70 % y la nocturna fue de 90 % (Anexo 8).

3.2 Material experimental

Para el experimento con los extractos se recolectaron hojas de plantas de Santa Lucía (*Ageratum conyzoides* L.), en estado de floración del lote 17 de la Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno. La recolección se realizó en dos fechas el 7 y el 9 de marzo del 2022.

Las semillas de las especies indicadoras utilizadas fueron: *B. pilosa*, la cual fue recolectada el 18 de septiembre del 2020 y *P. annua* el 9 de noviembre del 2020, ambas especies estaban almacenadas en frascos cerrados a temperatura ambiente y se obtuvieron del banco de semillas de la Sub-Estación Fraijanes de la Universidad de Costa Rica. Las semillas de arroz de la variedad Lazarroz provenían de Parrita, las cuales fueron cosechadas en septiembre del año 2018. Las semillas de pepino fueron compradas de una casa comercial. Las semillas de arroz y pepino fueron almacenadas en refrigeración previo a la siembra.

3.3 Procedimiento general

El experimento se realizó en tres etapas, las cuales fueron: a) prueba de germinación, b) prueba de tetrazolio y c) recolección, preparación y aplicación de los extractos de *A. conyzoides* L.

3.3.1 Pruebas de germinación

Para determinar el porcentaje de germinación de las especies indicadoras, las cuales fueron las semillas de arroz, pepino, *B. pilosa* y *P. annua*. Se realizaron tres tratamientos pre germinativos, los cuales consistieron en: a) imbibir las semillas de cada especie indicadora, en agua corriente por 24 horas, b) imbibir las semillas en una solución de KNO_3 con una concentración de 0,25 % p/v por 24 horas y c) un tratamiento testigo en el cual no se realizó ningún tratamiento.

Luego de la aplicación de los tratamientos se realizó la siembra en suelo no esterilizado de la clase textural franco limoso, con una relación óptima de carbono nitrógeno (Anexo 2) a una profundidad de 0,5 cm. Para esta prueba se utilizaron potes de plástico de 12,8 cm de diámetro y 9,8 cm de altura y se colocaron de forma aleatoria en el invernadero con riego por goteo, con un coeficiente de uniformidad de 91 % el cual es considerado bueno (Cun González et al., 2011), se realizaron tres riegos diarios de un minuto cada uno y los potes se mantuvieron a capacidad de campo. Se colocaron 10 semillas por pote, con un total de cuatro repeticiones por tratamiento, cada pote representó una unidad experimental. Se evaluó el número de plantas germinadas a los 8, 15 y 22 días después de siembra (DDS), tomando como germinadas las plantas que emergieron.

3.3.2 Prueba de tetrazolio

La preparación del indicador de viabilidad se realizó diluyendo un 1 g de la sal de tetrazolio (cloruro de 2,3,5-trifenil-2H-tetrazolio) en 100 ml de agua destilada y así obtener una concentración de 1 %. Para realizar la prueba, se colocaron en imbibición con agua por 24 horas 30 semillas de cada especie indicadora. Posteriormente, se realizó un corte longitudinal en las semillas de pepino y arroz. En el caso de *P. annua* no se realizó corte y las semillas de *B. pilosa* se escarificaron, mediante la imbibición durante 24 horas en agua destilada y se realizó la remoción manual del pericarpo, con aguja y pinzas de punta fina, esto sin afectar el embrión, con el fin de determinar su viabilidad (Modificado de International Rules for Seed Testing Association, 2014)

Las semillas de *C. sativus* fueron colocadas por 20 horas en la solución de tetrazolio mientras que las semillas de *B. pilosa*, *O. sativa* y *P. annua* se embebieron 24 horas en la solución. Transcurrido el tiempo de imbibición, se realizaron tres lavados con agua destilada. Se determinó la viabilidad de las semillas, mediante la observación de una

tonalidad rojo carmesí en la totalidad del embrión (Modificado de International Rules for Seed Testing Association, 2014). Para esto se utilizó un estereoscopio Motic SMZ-140 utilizando diferentes lentes (10 X-40 X).

3.3.3 Preparación y aplicación de los extractos

Desinfección del material vegetal: se tomaron 2,5 kg de las hojas frescas de santa lucía en estado de floración y se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 % durante cinco minutos, contenido en un recipiente. Para quitar el excedente de cloro se realizaron tres lavados con agua corriente, este procedimiento se realizó en una pila cubriendo por completo todo el material.

Extracto fresco: se colocaron 500 g de las hojas recién lavadas en una licuadora marca Black +Decker, se adicionaron 500 ml de agua corriente y se licuó la mezcla durante cinco minutos con una potencia 550 watts. La solución obtenida se filtró con un colador plástico con un diámetro de 21 cm. El licuado se repitió con el material fresco hasta obtener un volumen final de 5 L del extracto con una concentración madre de 100 % p/v, a partir de la cual se obtuvieron los extractos de 50 % p/v y 25 % p/v (Cuadro 1).

Extracto seco: se colocaron 5 kg de hojas frescas en etapa de floración en una estufa a una temperatura constante de 65° C durante 57 horas (Javaid et al., 2020).

Para la preparación de la solución madre se tomó 1 Kg de hojas secas y se colocó en un recipiente con 1 L de agua corriente y se dejó reposar durante 12 horas. Transcurrido ese tiempo se filtró el contenido por medio de un colador plástico con un diámetro de 21 cm.

Para obtener las dosis de 50 % y 25 % p/v se diluyó la solución madre 100 % con agua corriente hasta obtener tales porcentajes (Cuadro 1).

Descripción de las concentraciones

Las concentraciones utilizadas se basaron en experimentos previos en los cuales se emplearon metodologías similares (Javaid et al., 2020, Monti Texeira et al., 2004), sin embargo, se hicieron modificaciones como el aumento del volumen de las hojas, esto con el fin de obtener una concentración de 100 % p/v. En los experimentos reportados en la literatura usaron un menor volumen del material experimental y dosis inferiores a las utilizadas en este experimento.

Cuadro 1. Metodología de extracción y concentración de *Ageratum conyzoides* utilizados en el experimento Sub-Estación Experimental Fraijanes, marzo del 2022.

Metodología de extracción	Concentración del extracto (p/v)¹
Extracto fresco	100 %
	50 %
	25 %
Extracto seco	100 %
	50 %
	25 %
	Testigo

¹ relación peso (g) del material vegetal con el volumen de agua (ml)

3.3.4 Aplicación de los extractos

Las especies indicadoras se sembraron en potes plásticos de 12,8 cm de diámetro y 9,8 cm de altura, en total 10 semillas de cada especie, a una profundidad de 0,5 cm. En cada uno de los potes se colocaron 700 g de suelo no esterilizado de la clase textural franco limoso (Anexo 5) y con condiciones óptimas de carbono nitrógeno y conductividad eléctrica (Anexo 6), proveniente de la Sub-Estación Experimental Fraijanes.

Para la aplicación de los extractos se utilizó una bomba de aplicación de espalda tipo carpi con dimensiones de 9,5 x 15,5 x 1350 mm con una boquilla 8002 con regulador de presión de 1 bar y se usó un volumen de aspersion de 200 L/ha. La bomba fue calibrada previamente y se realizó la aplicación a una velocidad de 1,09 m/s.

Se colocaron 40 potes (10 por cada especie indicadora) en filas, para que la concentración de cada tratamiento fuera aplicada de manera uniforme sobre todas las especies en el mismo momento.

El tratamiento testigo consistió en realizar la siembra de las especies sin realizar la aplicación de ningún tratamiento.

Una vez aplicados los tratamientos los potes se colocaron de forma aleatoria en el invernadero, en el cual se monitoreó la temperatura, la humedad relativa y la radiación solar con un data logger EWR/basic serie V34-SERIE-040.

3.4 Variables evaluadas

Se contó el número de plantas emergidas a los 4, 8 y 15 días después de aplicación (DDA). También, a los 22 DDA se midió la longitud aérea y radical, y el peso fresco y seco de las plantas. Se evaluaron todas las plantas de cada unidad experimental.

Para medir la longitud radical, se utilizó una regla y se midió la longitud de la raíz primaria. La longitud aérea se midió a partir del hipocótilo (dicotiledóneas) y el mesocótilo (monocotiledóneas) hasta el ápice de las hojas.

Para evaluar el peso fresco, se tomaron el total de las plantas de cada unidad experimental (pote), se lavaron con agua corriente, se dejó que escurriera el exceso de agua, se tomó el peso fresco. Y posteriormente se guardaron en bolsas de papel, y se colocaron en una estufa para obtener el peso seco del material durante una semana a 80 ± 5 °C.

Diseño experimental: Se empleó un diseño irrestricto al azar en donde se analizaron dos métodos de extracción (extracto en fresco y en seco) y cuatro concentraciones de extracto (un testigo y tres concentraciones de 100 %, 50 % y 25 %). Y cada factor se analizó separadamente. Cada tratamiento tuvo un total de 10 repeticiones, para un total de 80 unidades experimentales para cada una de las especies indicadoras *Bidens pilosa* L., *Cucumis sativus* L., *Oryza sativa* L. y *Poa annua* L.

3.5 Análisis estadístico de datos

Para la germinación se realizó un ajuste logístico. Con este análisis se obtuvieron las razones de ventaja de la no germinación, lo que indica qué tratamiento tuvo mayor ventaja de inhibir la germinación al compararlo con otro. Se tomó un nivel de significancia del 5 %. Este análisis se basa en la fórmula (Portuguez et al., 2020)

$$\ln\left(\frac{p_i}{p_i - 1}\right) = \beta_0 + \beta_{1_i}X_i + \varepsilon$$

Donde:

$\ln\left(\frac{p_i}{p_i - 1}\right)$ = ventaja de no germinación (porcentaje de semillas no germinadas vs. porcentaje de semillas germinadas)

X_i = tratamiento

En las variables de longitud radical y aérea, peso fresco y peso seco se realizó un análisis de varianza, para estudiar las interacciones de los efectos de los factores, con un nivel de significancia de 5 %. En las variables que presentaron diferencias significativas se realizó una prueba Tukey y con base a esto se obtuvo la diferencia de los promedios tanto en la longitud aérea como la longitud radical. Es importante recalcar que no se realizaron comparaciones entre distintas especies por sus diferencias morfológicas, ya que darían diferencias que no serían atribuibles a los tratamientos aplicados.

Los análisis de datos se hicieron utilizando el software JMP versión 15.2.1 (Sall., 2023)

4 Resultados

4.1 Prueba de germinación y viabilidad.

Las pruebas pre germinativas realizadas antes de la aplicación de los extractos no presentaron diferencias significativas en *B. pilosa* y *O. sativa*. Las especies *C. sativus* y *P. annua* presentaron diferencias significativas entre tratamientos, pero el tratamiento que presentó ventaja de germinación fue el tratamiento testigo. En consecuencia, no se realizaron pruebas pre germinativas adicionales al momento de siembra para la aplicación de los extractos acuosos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación promedio de *Bidens pilosa*, *Cucumis sativus*, *Oryza sativa* y *Poa annua* luego de aplicar los tratamientos pre germinativos evaluado a los 22 días después de siembra, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Febrero, 2022.

Especie	Tratamiento			Probabilidad
	KNO ₃ (%)	Agua (%)	Testigo (%)	
<i>Bidens pilosa</i>	27,5	37,5	40	0,4566
<i>Cucumis sativus</i>	57,5	92,5	85	0,0004 *
<i>Poa annua</i>	32,5	35	62,5	0,0026 *
<i>Oryza sativa</i>	72,5	87,5	90	0,8138

* distinta de 1 al 5% de significancia

A los 22 días después de la siembra el mayor porcentaje de germinación se obtuvo en plantas de pepino y arroz, 85 % y 90 % respectivamente, con una viabilidad del 100 % de acuerdo con la prueba de tetrazolio. Por el contrario, la germinación de *B. pilosa* fue

solamente 50 % y la de *P. annua* de 40 %, mientras que la viabilidad de ambas arvenses, en ese mismo orden, fue de a 40 % y 62 % (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de germinación a los 22 días después de siembra y viabilidad al realizar una prueba de tetrazolio, en las especies indicadoras en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Febrero, 2022.

Especie	Germinación (%)	Viabilidad (%)
<i>Bidens pilosa</i>	40	50
<i>Poa annua</i>	62	40
<i>Cucumis sativus</i>	85	100
<i>Oryza sativa</i>	90	100

Las semillas de las especies consideradas como viables tanto de los cultivos como de las arvenses fueron las que presentaron una tonalidad rojo carmesí en el embrión de la semilla luego de realizar las pruebas de tetrazolio (Figura 1).

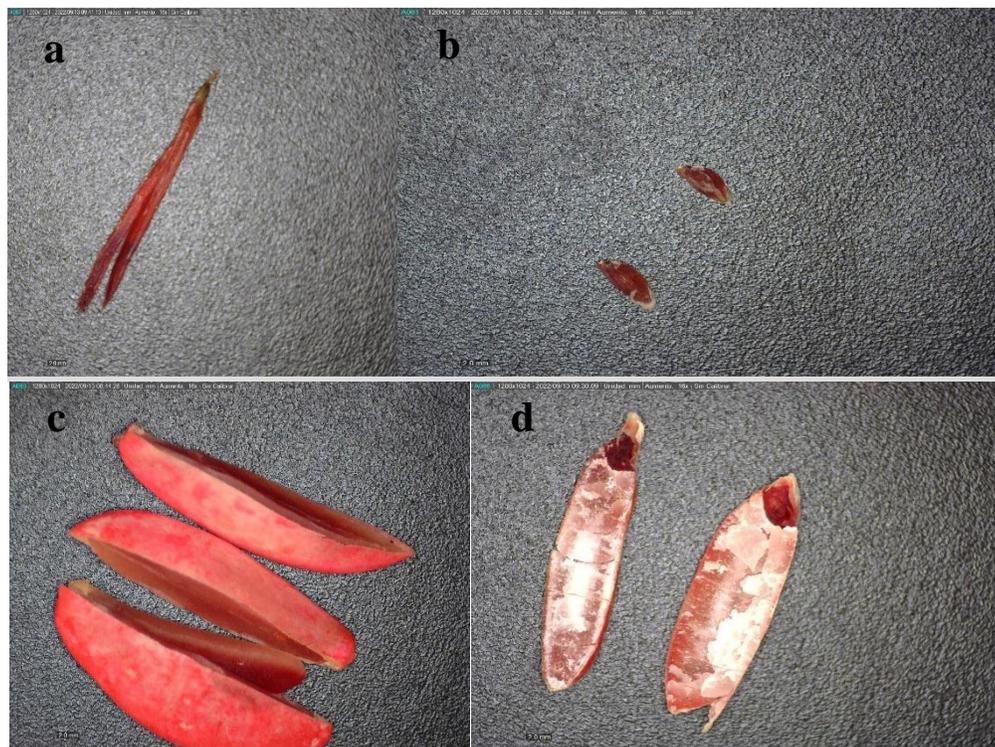


Figura 1. Coloración adquirida por las semillas viables después de la prueba de tetrazolio en las especies a) *Bidens pilosa*, b) *Poa annua*, c) *Cucumis sativus* y d) *Oryza*

sativa. observado en el microscopio Dino Lite con un rango de lentes de (10X-230 X). Estación Experimental Fabio Baudrit. Septiembre, 2022.

4.2 Germinación

A los 4 días después de aplicación (DDA) no se presentan resultados de germinación debido a que las especies no habían germinado en ese momento. A los 8 DDA de los extractos fresco y seco de *A. conyzoides*, solamente se presentaron diferencias entre tratamientos sobre la germinación de *C. sativus* (Cuadro 4). Debido a esto solamente se presenta un cuadro con los efectos de los extractos sobre *C. sativus* a los ocho DDA.

Al evaluar el efecto a los 15 DDA ambas metodologías presentaron diferencias entre los tratamientos de *C. sativus*. En *B. pilosa* la aplicación de extracto fresco presentó diferencias entre dosis. Este comportamiento se repitió en *O. sativa* y *P. annua* al emplear el extracto seco (Cuadro 4).

Cuadro 4. Probabilidades asociadas a la prueba de comparación de promedios de las dosis por separado, para cada método de extracción de *Ageratum conyzoides* sobre la germinación de *Bidens pilosa*, *Cucumis sativus*, *Poa annua* y *Oryza sativa* a los ocho y 15 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-estación Fraijanes. Marzo, 2022.

DDA ¹	Método de extracción	Especie			
		<i>Bidens pilosa</i>	<i>Cucumis sativus</i>	<i>Poa annua</i>	<i>Oryza sativa</i>
8	Seco	0,289	0,0001 *	0,4268	0
	Fresco	0,4951	0,0034 *	0,4264	0
15	Seco	0,2555	0,0001 *	0,0055 *	0,0004 *
	Fresco	0,0002 *	0,0001 *	0,2070	0,2462

* distinta de 1 al 5% de significancia

¹ días después de la aplicación

Al analizar las ventajas de la no germinación en *C. sativus* la dosis de numerador versus la dosis del denominador a los ocho DDA de los extractos fresco y seco de *A. conyzoides*, se determinó que las semillas de esta especie tratadas con el extracto seco al 100 % tuvieron una mayor ventaja para inhibir la germinación que en las que se aplicaron las dosis de 25 % y 50 % de este mismo extracto ya que estas ocasionaron mayor germinación que el testigo. (Cuadro 5).

Al aplicar emplear el extracto fresco en la dosis de 50 % sobre las semillas de *C. sativus* hubo una mayor ventaja de la inhibición germinación, que a las semillas en las que se aplicaron las dosis de 25 %, 100 % de este extracto y el testigo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Razones de ventaja entre las diferentes dosis de la no germinación en *Cucumis sativus* L. por extracto, a los ocho días después de la aplicación de los tratamientos. Sub-estación Fraijanes. Marzo del 2022.

Método de extracción	Razón de ventaja ¹					
	D100/T	D50/T	D25/T	D100/D50	D100/D25	D50/D25
Seco	1,4	0,17 *	0,14 *	8,21 *	10,19 *	1,24
Fresco	0,84	1,91 *	0,70	0,44 *	1,20	2,70 *

* distinta de 1 al 5% de significancia T=testigo, D=dosis

¹ razón de ventaja de numerador versus el denominador.

En *C. sativus* a los 15 DDA las semillas en las que se empleó el extracto seco en la dosis de 100 % demostró una mayor capacidad inhibitoria que las dosis de 25 % y 50 %, estas a su vez provocaron una mayor germinación que el testigo. No se observaron diferencias entre la dosis de 100 % y el testigo (Cuadro 6).

Al aplicar el extracto fresco en las dosis de 25 % y 100 % ocasionaron un incremento de la germinación al compararlas con el testigo. A las semillas aplicadas con el extracto fresco al 50 % no presentaron diferencias con el testigo, sin embargo, mostraron una mayor capacidad inhibitoria que en las que se utilizó la dosis de 100 % del mismo extracto (Cuadro 6).

Cuadro 6. Razón de ventaja de la no germinación en *Cucumis sativus* L. al aplicar los extractos fresco y seco, evaluado a los 15 días después de aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo 2022.

Método de extracción	Razón de ventaja 1					
	D25/T	D50/T	D100/T	D50/D100	D25/D50	D25/D100
Seco	0,29 *	0,08 *	1,33	0,06 *	3,89 *	0,22 *
Fresco	0,26 *	1,00	0,099 *	10,04 *	0,26 *	2,58

* distinta de 1 al 5% de significancia T=testigo, D=dosis

¹ razón de ventaja de numerador versus el denominador.

A los 15 DDA se detectó que solamente el extracto fresco tuvo un efecto sobre la germinación de *B. pilosa* en este sentido, al emplear las dosis de 25 % y 50 % ocasionaron mayor inhibición de la germinación la dosis de 100 % y el tratamiento testigo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Razón de ventaja de la no germinación en *Bidens pilosa* L. al aplicar el extracto fresco evaluado a los 15 días después de la aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

Método de extracción	Razón de ventaja ¹					
	D25/T	D50/T	D100/T	D50/D100	D25/D50	D25/D100
Fresco	1,85 *	2,26 *	0,72	3,12 *	0,82	2,55 *

* distinta de 1 al 5% de significancia T=testigo, D=dosis

¹ razón de ventaja de numerador versus el denominador.

En *O. sativa* a los 15 DDA el extracto seco con la dosis de 25 % demostró una mayor probabilidad inhibitoria de la germinación que al emplear la dosis de 50 %. A su vez al aplicar la dosis de 50 % las semillas demostraron una mayor probabilidad de promover la germinación que el testigo. En las demás comparaciones no se observaron diferencias (Cuadro 8).

Cuadro 8. Razón de ventaja de la no germinación en *Oryza sativa* L. al aplicar el extracto seco, evaluado a los 15 días después de la aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo. 2022.

Método de extracción	Razón de ventaja ¹					
	D25/T	D50/T	D100/T	D100/D50	D25/D50	D25/D100
Seco	0,90	0,20 *	0,51	2,53	4,43 *	1,75

* distinta de 1 al 5% de significancia T=testigo, D=dosis

¹ razón de ventaja de numerador versus el denominador.

En *P. annua* al aplicar el extracto seco en las dosis de 25 % y 50 % a los 15 DDA se incrementó la germinación de esta especie al compararlas con el testigo. En las demás comparaciones no se observaron diferencias significativas (Cuadro 9).

Cuadro 9. Razón de ventaja de la no germinación en *Poa annua* L. al aplicar el extracto seco, evaluado a los 15 días después de aplicación de los tratamientos, en invernadero. Sub-Estación Fraijanes. Marzo. 2022.

Método de extracción	Razón de ventaja ¹					
	D25/T	D50/T	D100/T	D100/D50	D25/D50	D25/D100
Seco	0,32 *	0,35 *	0,58	1,66	0,90	0,55

* distinta de 1 al 5% de significancia T=testigo, D= dosis

¹ razón de ventaja de numerador versus el denominador.

4.3 Longitud radical y aérea

Es importante recalcar que durante el desarrollo del experimento se dio la pérdida de la especie *P. annua* por causas desconocidas debido a esto no se presentan resultados de longitud radical y aérea de esta especie.

Al analizar el efecto del método de extracción y la dosis sobre la longitud radical y aérea de las especies, se determinó que, en *O. sativa* los efectos de las dosis y el extracto son independientes, y para estas variables solo hubo diferencias significativas entre los promedios de los extractos. En *B. pilosa* y *C. sativus* el efecto de la dosis fue diferente para el extracto fresco y el extracto seco (Cuadro 10).

Cuadro 10. Probabilidades asociadas a los efectos de la dosis y el extracto sobre la longitud aérea de las especies *B. pilosa*, *C. sativus* y *O. sativa* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo 2022.

Variable	Especie	Probabilidad		
		Extracto	Dosis	Extracto*Dosis
Longitud aérea (cm)	<i>B. pilosa</i>	0,0326 *	0,0001 *	0,0001 *
	<i>C. sativus</i>	0,0117 *	0,0439 *	0,00039 *
	<i>O. sativa</i>	0,0052 *	0,3407	0,3907
Longitud radical (cm)	<i>B. pilosa</i>	0,0001 *	0,2465	0,0012 *
	<i>C. sativus</i>	0,0127 *	0,0629	0,0017 *
	<i>O. sativa</i>	0,0054 *	0,6199	0,3368

* distintos al 5 % de significancia

En *O. sativa* las variables de longitud aérea y radical, fueron menores al emplear extractos frescos en comparación con los extractos secos (Cuadro 11).

Cuadro 11. Longitud radical y aérea promedio por extracto de *O. sativa* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

	Longitud aérea (cm)	Longitud radical (cm)
Extracto seco	6,99 ^a	4,08 ^a
Extracto fresco	5,28 ^b	3,17 ^b

Letras distintas en cada columna representan promedios distintos al 5 % de significancia
 Nota: la comparación de promedios es para cada extracto por separado

En *B. pilosa* al aplicar la dosis de 100 % p/v del extracto fresco, y la dosis de 25 % p/v del extracto seco se obtuvo mayores promedios de longitud aérea al compararlas con las demás dosis de su respectivo método de extracción y con el testigo presentaron diferencias (Cuadro 12).

En cuanto a la longitud radical, con el empleo de la dosis de 50 % p/v del extracto fresco se obtuvo un promedio inferior que con las demás dosis y el testigo. Y al aplicar el extracto seco este no presentó diferencias entre las dosis y el testigo (Cuadro 12).

Cuadro 12. Longitud radical y aérea promedio por extracto y dosis de *B. pilosa* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

Dosis (% p/v)	Longitud aérea (cm)		Longitud radical (cm)	
	Extracto Fresco	Extracto Seco	Extracto Fresco	Extracto Seco
100	1,19 ^b	0,63 ^a	1,88 ^a	2,83 ^a
50	0,41 ^a	0,78 ^a	1,47 ^b	3,90 ^a
25	0,66 ^a	1,46 ^b	1,86 ^a	3,94 ^a
Testigo	0,70 ^a	0,70 ^a	2,95 ^a	2,95 ^a

Letras distintas en cada columna representan promedios distintos al 5 % de significancia
 Nota: la comparación de promedios es para cada extracto por separado

Al evaluar el efecto de la dosis de cada extracto sobre la longitud aérea y radical de *C. sativus*, se observa que, el extracto seco al 50 % p/v ocasionó valores superiores en ambas variables al compararlo con la dosis de 100 % p/v. Al comparar los promedios obtenidos de ambas variables con la dosis de 50 % p/v, 25% p/v y el testigo no se presentaron diferencias entre estos tratamientos. Por el contrario, las dosis del extracto fresco no presentaron diferencias con respecto al testigo, en ambas variables. (Cuadro 13).

Cuadro 13. Longitud radical y aérea promedio por extracto y dosis de *C. sativus* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

Dosis (% p/v)	Longitud aérea (cm)		Longitud radical (cm)	
	Extracto	Extracto	Extracto	Extracto
	Fresco	Seco	Fresco	Seco
100	3,59 ^a	2,04 ^a	4,04 ^a	1,85 ^a
50	2,74 ^a	3,53 ^b	2,99 ^a	3,70 ^b
25	3,84 ^a	3,10 ^{ab}	3,42 ^a	3,42 ^{ab}
Testigo	3,02 ^a	3,02 ^{ab}	3,13 ^a	3,13 ^{ab}

Letras distintas en cada columna representan promedios distintos al 5% de significancia
 Nota: la comparación de promedios es para cada extracto por separado

4.4 Biomasa

Es importante recalcar que durante el desarrollo del experimento se dio la pérdida de la especie *P. annua* por causas desconocidas debido a esto no se presentan resultados de biomasa de esta especie.

A los 22 DDA de los extractos fresco y seco de *A. conyzoides*, se presentaron diferencias en la biomasa de *B. pilosa* dependiendo del extracto empleado. En *C. sativus* el peso fresco promedio varió dependiendo del extracto y la dosis, y en el peso seco no hubo diferencias. En *O. sativa* ningún extracto o dosis ocasionó diferencias entre los promedios en la biomasa fresca ni en la seca (Cuadro 14).

Cuadro 14. Probabilidades asociadas al efecto de la dosis y el extracto sobre la biomasa de las especies *B. pilosa*, *C. sativus* y *O. sativa* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

Variable	Especie	Probabilidad		
		Extracto	Dosis	Dosis*Extracto
Peso fresco (g)	<i>B. pilosa</i>	0,0014 *	0,2409	0,2041
	<i>C. sativus</i>	0,8999	0,7354	0,0009 *
	<i>O. Sativa</i>	0,1208	0,2916	0,2544
Peso seco (g)	<i>B. pilosa</i>	0,0080 *	0,4109	0,0631
	<i>C. sativus</i>	0,868	0,0035 *	0,2571
	<i>O. Sativa</i>	0,2427	0,8161	0,4957

* distintos al 5% de significancia

En *B. pilosa* al emplear extractos frescos se obtuvo un menor peso fresco y seco promedio que al emplear extractos secos (Cuadro 15).

Cuadro 15. Biomasa promedio por extracto de *B. pilosa* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
Extracto seco	0,40 ^a	0,13 ^a
Extracto fresco	0,27 ^b	0,10 ^b

Letras distintas en cada columna representan promedios distintos al 5% de significancia
Nota: la comparación de promedios es para cada extracto por separado

Al evaluar el efecto de las dosis de los extractos frescos en *C. sativus* no se encontró diferencias de peso fresco. En cambio, en al aplicar el extracto seco la dosis de 25 % p/v ocasionó una menor biomasa fresca que la dosis de 50 % p/v y no presentó diferencias con la dosis de 100 % p/v ni el tratamiento testigo (Cuadro 16)

Cuadro 16. Peso fresco promedio por extracto y dosis de *C. sativus* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

Dosis (% p/v)	Peso fresco (g)	
	Extracto Fresco	Extracto Seco
100	11,97 ^a	11,00 ^{ab}
50	9,81 ^a	16,10 ^a
25	14,82 ^a	7,90 ^b
Testigo	12,80 ^a	12,80 ^{ab}

Letras distintas en cada columna representan promedios distintos al 5% de significancia
Nota: la comparación de promedios es para cada extracto por separado

En *C. sativus* la dosis de 50 % generó diferencias en el peso seco con respecto a las dosis de 25 %, 100 % p/v y el testigo, sin embargo, no se indica con qué extracto.

Cuadro 17. Peso seco promedio por dosis de *C. sativus* a los 22 días después de aplicación de los tratamientos. Sub-Estación Fraijanes. Marzo, 2022.

	Dosis (% p/v)			Testigo
	25	50	100	
Peso seco (g)	1,41 ^b	2,31 ^a	1,34 ^b	1,49 ^b

Letras distintas representan promedios distintos al 5% de significancia

5 Discusión

En esta investigación se observó que las especies demostraron diferencias en cuanto a la germinación por la aplicación de los extractos, como resultado se dio una reducción de la germinación de la especie *B. pilosa*, en la especie *P. annua* por el contrario se promovió una mayor germinación con la aplicación de algunos extractos.

Como se mencionó anteriormente en *B. pilosa* se observó una menor germinación al emplear extractos frescos de *A. conyzoides* en las concentraciones de 25 % y 50 % p/v (Cuadro 7). Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros autores en los que se demuestra la sensibilidad de *B. pilosa* a los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *A. conyzoides* (Dias et al., 2017, Medeiros et al., 2020). Esta respuesta se puede dar debido a la liberación de aleloquímicos en el suelo los cuales contribuyen a que haya una respuesta por parte de las plantas (Akter e Islam., 2019). Sin embargo, no hay estudios específicos sobre los mecanismos fisiológicos que participan en esta respuesta (Kremer et al., 2020).

En *C. sativus* se observó tanto la promoción como la inhibición de esta especie al ser expuesta a los dos métodos de extracción. Por ejemplo, al aplicar los extractos frescos en las concentraciones de 25 % y 100 % y extractos secos 25 % y 50 % se dio una mayor germinación que con el testigo. Sin embargo, al aplicar la dosis de 50 % del extracto fresco, esta ocasionó una mayor inhibición de la germinación que la dosis de 100 % de este mismo extracto sin embargo no fue significativo con respecto al testigo (Cuadro 6), este resultado es diferente al obtenido en otros estudios ya que no presenta disminución de la germinación al aplicar los extractos en distintas dosis con respecto al testigo (Akter y Islam., 2019).

La variación en esta respuesta podría ser debido a que esta especie es sensible a los cambios en el entorno en el que se desarrolla (Wang et al., 2001). En este sentido es importante recalcar que las respuestas por parte de las plantas a su exposición a medios con metabolitos secundarios pueden ser de promoción o inhibición (Parvez et al., 2003),

debido a que las respuestas fisiológicas no son producto únicamente de la liberación y exposición de los aleloquímicos (Hierro & Callaway., 2021).

En *P. annua* al emplear el extracto seco en las dosis 25 % y 50 % se observó un estímulo de la germinación al compararlo con el testigo (Cuadro 9), esto concuerda con los resultados obtenidos en otras investigaciones en las que al aplicar extractos acuosos de distintas especies como *Lolium perenne* L. se incrementó la germinación de *P. annua* (Kovár et al., 2013). Esta respuesta a su vez podría estar relacionada con que algunos de los compuestos presentes en los extractos acuosos pueden activar enzimas que promueven la germinación (Findura et al., 2020)

También, es necesario mencionar que los metabolitos secundarios en dosis muy bajas pueden tener efectos de promoción de la germinación y desarrollo sobre las arvenses, y solo cuando superan estas concentraciones ocasionan efectos contraproducentes (Blanco., 2006) este efecto es conocido como hormesis (Cedergreen et al., 2005). Es importante destacar que las plantas que han co-evolucionado en un entorno cercano a ciertos metabolitos secundarios se pueden adaptar y no tener efectos negativos sobre su desarrollo al ser expuestas a dosis inferiores de estos compuestos (Blanco., 2006).

Por otro lado, los extractos acuosos pueden contener una cantidad variable de los metabolitos secundarios dependiendo de la época del año y del momento del ciclo de vida de las plantas donadoras (Bresciano et al., 2022).

En *O. sativa* el empleo de extractos secos al 25 % ocasionó una mayor probabilidad de inhibir la germinación que la dosis de 50 % de este mismo extracto (Cuadro 8) y los extractos frescos ocasionaron mayor inhibición de la longitud radical y aérea (Cuadro 11) lo cual es diferente a las respuestas observadas en otros estudios en el cual se inhibió la germinación y se dio una disminución de la longitud radical y aérea de *O. sativa* al aplicar extractos acuosos a partir de hojas y raíces secas de *A. conyzoides* en una dosis de 100 % (Negi et al., 2020).

En cuanto a las variables de longitud radical y aérea en *B. pilosa* se observó una mayor longitud aérea promedio con la aplicación del extracto seco en la dosis de 25 % y el extracto fresco con la dosis de 100 % p/v, y en la longitud radical obtuvo un menor

promedio radical al emplear la dosis de 50 % del extracto fresco (Cuadro 12) este extracto también ocasionó una menor biomasa (Cuadro 14). Esta variación en los resultados de la longitud radical y aérea se pueden relacionar con las interacciones que los metabolitos secundarios con el suelo y la especie ya que esto conlleva a resultados más complejos (Macías et al., 2019).

Por último *C. sativus* presentó una mayor longitud radical y aérea en las semillas que se aplicó el extracto seco a una concentración de 50% p/v (Cuadro 13) a su vez con esta dosis se obtuvo un mayor peso fresco promedio que con la dosis de 25 % y no hubo diferencias con las semillas tratadas con las dosis de este extracto (Cuadro 16). Los resultados obtenidos en estas variables de *C. sativus* difiere con los resultados obtenidos por Kremer et al., 2020, ya que en este estudio se demostró que la aplicación de extractos acuosos y alcohólicos de la especie *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Val en distintas concentraciones ocasionan un aumento de las estructuras anatómicas de *C. sativus*. Sin embargo, es importante destacar que estas variables no presentaron diferencias con respecto al testigo (Cuadro 13).

En general las respuestas de promoción o inhibición dependen del nivel de adaptación de las plantas a los aleloquímicos aplicados (Koocheki et al., 2013) ya que los metabolitos secundarios que ocasionan estas respuestas son liberados en pequeñas dosis de forma natural (Kremer et al., 2020). Además, algunas plantas pueden metabolizar compuestos para contrarrestar el efecto de metabolitos secundarios como fenoles y flavonoides (Assaf et al., 2022).

Específicamente en *B. pilosa* el extracto fresco demostró una mayor eficacia para la inhibición de esta especie, esto se podría explicar debido a que al ser un proceso destructivo se permite una mayor liberación de los compuestos que ocasionan este efecto, al darse la destrucción de la pared celular y una mayor concentración de fitoquímicos solubles en el medio (Findura et al., 2020). Los compuestos responsables de los efectos alelopáticos están presentes en las plantas en dosis bajas debido a que son compuestos que son liberados en condiciones de estrés de las plantas (Afaan et al., 2022).

En las últimas décadas se han realizado ensayos con compuestos aleloquímicos; sin embargo, aún no se conoce con exactitud el método de extracción más eficaz para su

obtención (Bourgaud et al., 2001). También es importante recalcar que el contenido de metabolitos secundarios presentes en subproductos es inestable, debido a que varía por distintos factores, entre ellos el método de extracción empleado (Afaan et al., 2022). Otro factor que representa un reto en estos ensayos es la diferencia de las respuestas obtenidas en laboratorios con respecto a los ensayos de campo (Hierro y Callaway., 2021).

6 Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que los extractos alelopáticos de *A. conyzoides* no tienen un efecto inhibitorio sobre la germinación de *P. annua*. Por otro lado, en *B. pilosa* el extracto fresco demostró ser eficiente en la inhibición de la germinación en la dosis de 50 % p/v, este a su vez ocasionó una menor longitud radical y biomasa.

En *O. sativa* hubo selectividad al emplear ambos extractos, ya que no hubo un efecto inhibitorio de la germinación al compararlo con el testigo. Sin embargo, el extracto fresco ocasionó una menor longitud radical y aérea que el extracto seco. En *C. sativus* ambos extractos presentaron selectividad, puesto que ninguna dosis ocasionó efecto inhibitorio de la germinación y las demás variables medidas.

Con los resultados obtenidos se concluye que extracto fresco en la dosis de 50 % p/v fue el que demostró mayor eficiencia para la inhibición de la germinación de las especies *B. pilosa* y *C. sativus*.

7 Recomendaciones

Se recomienda para futuras investigaciones realizar la preparación de extractos empleando distintos solventes como alcohol o metanol que han demostrado ser eficientes para extractos acuosos. También realizar los extractos con distintos métodos de extracción ya que estos influyen directamente en la eficacia de los extractos acuosos.

8 Bibliografía

- Abaza, L., Youssef, N., Manai, H., Mahjoub, F., Methenni, K., & Zarrouk. (2011). Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y aceites* 62(1), 96-104. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0566-1_4
- Afaan, M., Bashir, I., Ahmad, M., Yaqoob, U., Naseem, S. (2022). In vitro strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review. *Bulletin of the national research centre*, 46(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00717-z>
- Akter, P., & Islam, M. (2019). Allelopathic effects of root exudates of some weeds on germinability and growth of radish (*Raphanus sativus* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Indian journal of agricultural research* 53(1), 33-38. <https://doi.org/10.18805/ijare.a-381>
- Alcántara-de la Cruz, R., Fernández-Moreno, P. T., Ozuna, C. V., Rojano-Delgado, A. M., Cruz-Hipolito, H. E., Domínguez-Valenzuela, J. A., Barro, F., & de Prado, R. (2016). Target and non-target site mechanisms developed by glyphosate-resistant hairy beggarticks (*Bidens pilosa* L.) populations from Mexico. *Frontiers in plant science*, 7(2016), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01492>
- Ambika, S.R. (2013). Multifaceted attributes of allelochemicals and mechanism of allelopathy. In: Cheema, Z., Farooq, M., Wahid, A. (eds) *Allelopathy*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-30595-5_16
- Assaf, M., Korkmaz, A., Karaman, &, & Kulak, M. (2022). Effect of plant growth regulators and salt stress on secondary metabolite composition in Lamiaceae species. *South African Journal of Botany*, 144, 480-493. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.10.030>
- Bachheti A., Sharma A., Bachheti RK, Husen A., & Pandey DP (2019). Plant Allelochemicals and Their Various Applications. In J.M Merillon & K. Ramawat. (Eds) *Co-Evolution of Secondary Metabolites*. Reference series in phytochemistry (pp. 1-25) Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76887-8_14-1
- Bajwa, A., Mahajan, G., & Chauhan, B. (2015). *Nonconventional Weed Management*

- Strategies for Modern Agriculture*. Weed Science 63(4), 723-747. <https://doi.org/10.1614/ws-d-15-00064.1>
- Barreto O., J., Tirado O., Y., & Chica L., J. (2016). Indicadores de competitividad del cultivo del arroz en Colombia y Estados Unidos. *Revista De Ciencias Agrícolas*, 33(2), 16-31. <https://doi.org/10.22267/rcia.163302.49>
- Batish, D., Kaur, S., Singh, H., & Kohli, R. (2009). Nature of interference potential of leaf debris of *Ageratum conyzoides*. *Plant Growth Regulation*, 57(2), 137-144. <https://doi.org/10.1007/s10725-008-9329-9>
- Belz, R. (2007). Allelopathy in crop/weed interactions an update. *Pest Management Science*, 63(4), 308-326. <https://doi.org/10.1002/ps.1320>
- Birkett, M., Chamberlain, K., Hooper, A., & Pickett, J. (2001). *Does allelopathy offer real promise for practical weed management and for explaining rhizosphere interactions involving higher plants?* Plant and Soil 232(1/2), 31–39. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0566-1_4
- Blanco, Y. (2006). La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Cultivos Tropicales*, 27(3), 5-16.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(01)00490-3)
- Bousalis, P. (2017). *Herbicide resistant annual bluegrass globally (Poa annua)*. List of the herbicide resistant weeds by weed species. <http://www.weedscience.org/Pages/Species.aspx>
- Burgos, N. R., Constantin, R., & Takano, H. (2016). *Multiple resistant Bidens pilosa*. Multiple resistant *Bidens pilosa* from Brazil. <http://www.weedscience.org/Pages/Case.aspx?ResistID=14053>
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., Weintraub, M. N., & Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216–234. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>

- Caser, M., Demasi, S., Caldera, F., Dhakar, N., Trotta, F., & Scariot, V. (2020). *Activity of Ailanthus altissima (Mill.) Swingle Extract as a Potential Bioherbicide for Sustainable Weed Management in Horticulture*. *Agronomy*, 10(7), Article 965 <https://doi.org/10.3390/agronomy10070965>
- Cedergreen, N., Ritz, C., & Streibig, J. (2005). *Improved empirical models describing hormesis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(12), 3166-3172. <https://doi.org/10.1897/05-014r.1>
- Chaves, N., Araya, R., & Debouck, D. (2014). Cruzamiento natural en frijol común en Costa Rica. *Agronomía mesoamericana*, 25(1), 23-33.
- Cun González, R., Puig Estrada, O., Morales Gómez, C., & Duarte Díaz, C. (2011). Evaluación de la uniformidad del riego por goteo en condiciones de casas de cultivo en explotación. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 20(1), 36-39.
- Da Silva Oliveira, J., Pereira Peixoto, C., Da Silva Ledo, C., & Trindade Almeida, A. (2019). *Extractos acuosos vegetais no controle de Bidens pilosa L.* *Plant Science*, 86, Article e0532016 1-6. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000532016>
- Dass, A., Shekhawat, K., Choudhary, A., Sepat, S., Rathore, S., Mahajan, G., & Chauhan, B. (2017). Weed management in rice using crop competition-a review. *Crop protection*, 95, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.005>
- Délye, C., Jasieniuk, M., & Le Corre, V. (2013). Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends in Genetics*, 29(11), 649-658. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.06.001>
- Dias, M., Nozari, R., & Santarem, E. (2017). Herbicidal activity of natural compounds from *Baccharis* spp. on the germination and seedlings growth of *Lactuca sativa* and *Bidens Pilosa*. *Allelopathy journal*, 42(1): 21-36. <https://doi.org/10.26651/2017-42-1-1103>
- Fernandes, J. (2021). Morfologia de *Ageratum conyzoides* (Asteraceae): uma espécie proibida em produtos tradicionais fitoterápicos no Brasil. *Enciclopédia Biosfera*, 18(38). https://doi.org/10.18677/encibio_2021d32
- Findura, P., Hara, P., Szparaga, A., Kocira, S., Czerwińska, E., Bartoš, P., & Treder, K. (2020). Evaluation of the effects of allelopathic aqueous plant extracts, as potential

- preparations for seed dressing, on the modulation of cauliflower seed germination. *Agriculture*, 10(4), Article 122. <https://doi.org/10.3390/agriculture10040122>
- Flessner, M. L., Wehtje, G. R., & McElroy, J. S. (2013). Methiozolin Absorption and Translocation in Annual Bluegrass (*Poa annua*). *Weed Science*, 61(2), 201–208. <https://doi.org/10.1614/ws-d-12-00128.1>
- Herbicide Resistance Action Committee. (2023). *The International Herbicide-Resistant Weed Database*. Recuperado 27 de mayo de 2023, de www.weedscience.org
- Hierro, J., & Callaway, R. (2021). The Ecological Importance of Allelopathy. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 52(1), 25-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-051120-030619>
- International Rules for Seed Testing Association. (2014). Seed Vigour testing. ISTA
- Izhaki, I. (2002). Emodin—a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. *The New Phytologist*, 155(2), 205-217. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00459.x>
- Javaid, N., Mukhtar, H. S., Iqra, H. K., Javaid, A., & Syed, M. W. (2020). Herbicidal activity of *Ageratum conyzoides* against parthenium. *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 26(2), 137. <https://doi.org/10.28941/pjwsr.v26i2.823>
- Kalisz, S., Kivlin, S., & Biablic, L. (2021). Allelopathy is pervasive in invasive plants. *Biological Invasion*, 23(2), 367-371. <https://doi.org/10.1007/s10530-020-02383-6>
- Kamran, M., Raza, A., Qasim, A., Hafiz, H.A., & Muhammad, S.C. (2017). Investigating the influence of fertilizer and allelopathic water extracts on maize and associated weeds. *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 23(3), 361-378.
- Khaliq, A., Matloob, A., Khan, M., & Tanveer, A. (2013). Differential suppression of rice weeds by allelopathic plant aqueous extracts. *Planta Daninha*, 31(1), 21-28. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582013000100003>
- Kong, C., Liang, W., Hu, F., Xu, X., Wang, P., Jiang, Y., & Xing, B. (2004). Allelochemicals and their transformations in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchard soils. *Plant and Soil*, 264(1/2), 149–157. <https://doi.org/10.1023/b:plso.0000047759.65133.fa>

- Koocheki, A., Lalegani, B., & Hosseini, S. (2013). Ecological consequences of Allelopathy. En Cheema, Z., Farooq, M., & Wahid, A. *Allelopathy Current Trends and Future Applications*. (pp 23-38). https://doi.org/10.1007/978-3-642-30595-5_2
- Kóvar, P., Vozár, L., & Jančovič, J. (2013). The influence of water extracts of selected turfgrass species on germination and initial growth of *Poa annua* L. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 61(3), 677–681. <https://doi.org/10.11118/actaun201361030677>
- Kremer, T., Yamashita, O., Da Silva, I., Pereira, M., & Batistão, A. (2020). Extractos alcoólicos de gerváo (*Stachytarpheta cayennensis*) causam alteração anatômica em plântulas de pepineiro. *Revista Em Agronegócio E Meio Ambiente*, 13(1), 333-348. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2020v13n1p333-348>
- Lin, D., Sugitomo, Y., Dong, Y., Terao, H., & Matsuo, M. (2006). Natural herbicidal potential of saururaceae (*Houttuynia cordata* Thunb) dried powders on paddy weeds in transplanted rice. *Crop Protection*, 25(10), 1126-1129. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.02.004>
- Macías, F., Castellano, D., & Molinillo, D. (2000). Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of Standard targeted species. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48(6), 2512-2521. <https://doi.org/10.1021/jf9903051>
- Macías, F., Mejías, F., & Molinillo, J. (2019). Recent advances in allelopathy for weed control: from knowledge to applications. *Pest Management Science*, 75 (9), 2413-2436. <https://doi.org/10.1002/ps.5355>
- Mao, Q. (2014). The allotetraploid evolutionary origin of annual bluegrass. (Tesis doctoral, The Pennsylvania State University). ProQuest One Academic. <https://search-proquest-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/dissertations-theses/allotetraploid-evolutionary-origin-annual/docview/1639033649/se-2?accountid=28692>
- Mao, Q., & Huff, D. (2012). The evolutionary origin of *Poa annua* L. *Crop science*, 52(4), 1910-1922. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.01.0016>
- Medeiros Grindi, D., Medeiros Coelho, C., Gavicho Uarrota, V., & Martinez Rebelo, A. (2020). Herbicidal bioactivity of natural compounds from *Lantana camara* on the

- germination and seedling growth of *Bidens pilosa*. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 50, Article e57746. <https://doi.org/10.1590/1983-40632020v5057746>
- Mondal, S., Duary, B., Mondal, B., & Panda, D. (2020). Allelopathic effect of aqueous leaf extracts of selected trees on germination and seedling growth of rice. *Journal of Environmental Biology*, 41(2), 255-260. <https://doi.org/10.22438/jeb/41/2/mrn-1218>
- Monti Teixeira, C., Silva Araújo, J., & De Carvalho, G. (2004). Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de picão-preto (*Bidens pilosa* L.). *Ciência e agrotecnologia*, 28(3), 691-695. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542004000300028>
- Okunade, A. L. *Ageratum conyzoides* (asteraceae). *Fitoterapia*, 73(1), 1-16. [https://doi.org/10.1016/s0367-326x\(01\)00364-1](https://doi.org/10.1016/s0367-326x(01)00364-1)
- Rahaman, F. Juraimi, A. S., Rafi, M. Y., Udin, M. K., Hassan, L. Chowdury, A. K., & Bashar, H. M. K. (2021). Allelopathic effect of selected rice (*Oryza sativa*) varieties against barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). *Plants*, 10(10), 1-20. <https://doi.org/10.3390/plants10102017>
- Negi, B., Bargali, S., Bargali, K., & Khatri, K. (2020). Allelopathic Interference of *Ageratum conyzoides* L. against Rice Varieties. *Current Agriculture Research Journal*, 8(2), 69-76. <https://doi.org/10.12944/carj.8.2.01>
- Olofsdotter, M., Jensen, L., & Courtois, B. (2002). Improving crop competitive ability using allelopathy - an example from rice. *Plant Breeding*, 121(1), 1-9. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.2002.00662.x>
- Pardo, M., Puig, C., Souto, X., & Pedrol, N. (2020). Water-soluble phenolic acids and flavonoids involved in the bioherbicidal potential of *Ulex europaeus* and *Cytisus scoparius*. *South African Journal of Botany*, 133, 201-211. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.07.023>
- Pardo-Muras, M., Puig, C., & Pedrol, N. (2022). Complex Synergistic Interactions among Volatile and Phenolic Compounds Underlie the Effectiveness of Allelopathic Residues Added to the Soil for Weed Control. *Plants*, 11(9), 1114. <https://doi.org/10.3390/plants11091114>
- Parvez, S. S., Parvez, M. M., Fujii, Y., & Gemma, H. (2004). Differential allelopathic

- expression of bark and seed of *Tamarindus indica* L. *Plant Growth Regulation*, 42(3), 245-252. <https://doi.org/10.1023/b:grow.0000026493.95805.a5>
- Pinchao-Pinchao, Y., Ordoñez-Santos, L., & Osorio-Mora, O. (2019). Evaluation of the effect of different factors on the ultrasound assisted extraction of phenolic compounds of the pea pod. *Dyna* 86(210), 211-215. <https://doi.org/10.15446/dyna.v86n210.72880>
- Portuguez-García, M. P., Rodríguez-Ruiz, A. M., Porras-Martínez, C., & González-Lutz, M. I. (2020). Imbibition and temperature to rupture latency of *Ischaemum rugosum* Salisb. *Agronomia Mesoamericana*, 31(3), 793–802. <https://doi.org/10.15517/am.v31i3.38392>
- Rahaman, F., Juraimi, A. S., Rafii, M. Y., Uddin, M. K., Hassan, L., Chowdhury, A. K., & Bashar, H. M. K. (2021). Allelopathic effect of selected rice (*Oryza sativa*) varieties against barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). *Plants*, 10(10), 1–20. <https://doi.org/10.3390/plants10102017>
- Rao, A., Wani, S., Ramesha, M., & Ladha, J. (2015). Weeds and Weed Management of Rice in Karnataka State, India. *Weed Technology*, 29(1), 1-17. <https://doi.org/10.1614/wt-d-14-00057.1>
- Reidah, I., Arráez, D., Quirantes, R., Fernández, S., Segura, A., & Fernández, A. (2012). HPLC–ESI-Q-TOF-MS for a comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in cucumber whole fruit extract. *Food Research International*, 46(1), 108-117. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.026>
- Rodríguez, A., Chaves, N., Hernández, A., & Herrera, F. (2015). Determinación de resistencia al cletodim en *Poa annua* en Costa Rica. *Agronomía mesoamericana*, 26(2), 257-266. <https://doi.org/10.15517/am.v26i2.19325>
- Rojas-Sandoval, L. (2018, 10 de Junio). *Bidens pilosa* (blackjack). *CABI Compendium*. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.9148>
- Santos, JBD, & Cury. (2011). Picão -Preto: Uma planta Daninha especial em solos tropicais. *Planta Daninha*, 29, 1159–1171. <https://doi.org/10.1590/s0100-83582011000500024>

- Sall, J. (2023). *JMP: Statistical discovery software Version (15.2)*. Cary, NC; SAS Institute.
- Shah, A., Ahmed, S., Ali, A., & Yasin, N. (2020). 2-Hydroxymelatonin mitigates cadmium stress in *Cucumis sativus* seedlings: Modulation of antioxidant enzymes and polyamines. *Chemosphere*, 243, 125308. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125308>
- Song, W., Gao, X., Zhang, F., Liu, W., Liu, G., & Zhang, H. (2017). Effects of aqueous extracts from 3 common plants on seed germination of *Agropyron cristatum* and *Poa annua*. *Journal of Northwest A & F University-Natural Science Edition*, 45(3), 185-191.
- Valverde Balladares, P. V. (2015). Composición química, potencial antimicrobiano y letal de los aceites esenciales de las hojas de Hierba Luisa (*Cymbopogon Citratus*), Mastrante (*Ageratum Conyzoides*), Guabiduca (*Piper Carpunya*), Ajenjo (*Artemisia Absinthium*) y Cedrón (*Lippia Citriodora*), cultivados en la República del Ecuador. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala]. Repositorio Digital de la Universidad Técnica de Machala. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2799>
- Vélez-Gavilán, J. (2016, 15 de setiembre). *Ageratum conyzoides* (billy goat weed). *CABI Compendium*. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.3572>
- Wang, X., Sun, C., Gao, S., Wang, L., & Shuokui, H. (2001). Validation of germination rate and root elongation as indicator to assess phytotoxicity with *Cucumis sativus*. *Chemosphere*, 44(8), 1711-1721. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00520-8](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00520-8)
- Wong-Paz, J. E., Aguilar-Zárate, P., Veana, F., & Muñoz-Márquez, D. B. (2020). Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la obtención de compuestos bioactivos de los residuos de frutos cítricos. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–11. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.255>
- Xuan, T., Shinkichi, T., Hong, N., Khanh, T., & Min, C. (2004). Assessment of phytotoxic action of *Ageratum conyzoides* L. (billy goat weed) on weeds. *Crop Protection*, 23 (10), 915-922. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.02.005>
- Yadav, N., Ganie, A., Singh, B., Chhillar, A., & Yadav, S. (2019). Phytochemical

components and ethnopharmacological properties of *Ageratum conyzoides* L. *Phytotherapy research*, 33(9), 2163-2178. <https://doi.org/10.1002/ptr.6405>

Yan, H., Ma, J., Zhang, J., Wang, G., Zhang, C., Akhlaq, M., Huang, S., & Yu, J. (2022). Effects of film mulching on the physiological and morphological parameters and yield of cucumber under insufficient drip irrigation. *Irrigation and Drainage*, 71(4), 897-911. <https://doi.org/10.1002/ird.2712>

Zhang, P., Zhong, K., Zhong, Z., & Tong, H. (2019). Genoma-wide association study of important agronomic traits withing a core collection of rice (*Oryza sativa* L.). *BCM Plant Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1842-7>

9 Anexos.

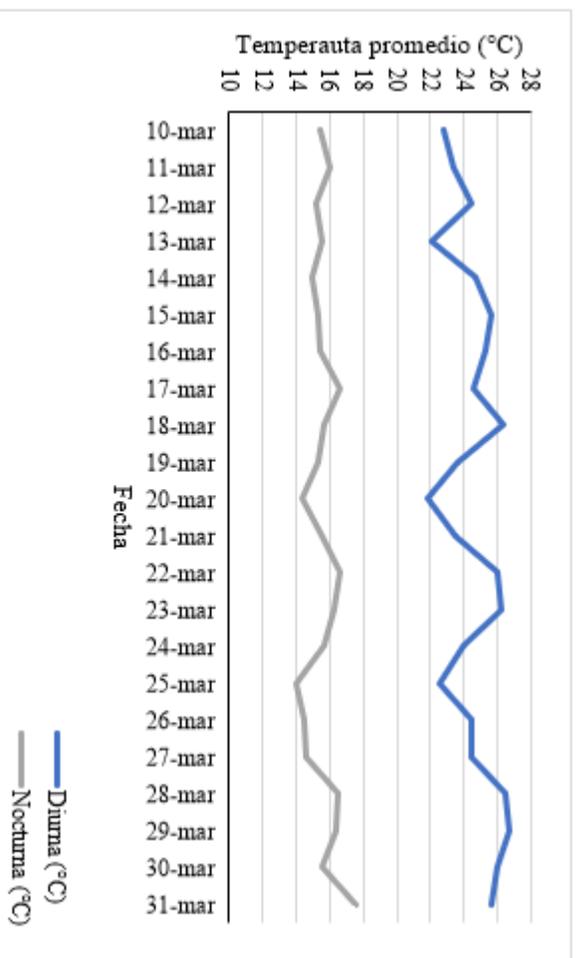
Anexo 1. Resultado de la clase textural del suelo en el que se realizó la siembra de las especies del experimento, Sub-estación Fraijanes.

%			Clase textural
ARENA	LIMO	ARCILLA	FRANCO ARENOSO
62	28	10	

Anexo 2. Resultado de la relación C/N y la conductividad eléctrica (CE) del suelo en el que se realizó la siembra de las especies del experimento, Sub-Estación Fraijanes.

CE (mS/cm)	C (%)	N (%)	C/N
0,3	12,18	1,03	11,8

Anexo 3. Temperatura (°C) diurna y nocturna en el invernadero de la Sub-Estación Fraijanes durante el desarrollo del experimento. Marzo 2022.



Anexo 4. Humedad relativa diurna y nocturna en el invernadero de la Sub-Estación Fraijanes durante el desarrollo del experimento. Marzo 2022.

