

## Potencial herbicida de aceites esenciales de plantas mediterráneas para el control de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv

LLORENS JA<sup>1</sup>, FÉRNANDEZ U<sup>2</sup>, TORRES N<sup>3</sup>, GÓMEZ DE BARREDA D<sup>4</sup>, OSCA JM<sup>5</sup>, SÁNCHEZ-MOREIRAS A<sup>6</sup>, VERDEGUER M<sup>7</sup>.

<sup>1, 2, 3, 7</sup> Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, s/n, 46020, Valencia, SPAIN.

[juanllom2@qim.upv.es](mailto:juanllom2@qim.upv.es), [ulferto@alumni.upv.es](mailto:ulferto@alumni.upv.es), [natorpa@etsiamn.upv.es](mailto:natorpa@etsiamn.upv.es), [merversa@doctor.upv.es](mailto:merversa@doctor.upv.es)

<sup>4, 5</sup> Departamento de Producción Vegetal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, s/n, 46020, Valencia, SPAIN.

[diegode@btc.upv.es](mailto:diegode@btc.upv.es), [josca@prv.upv.es](mailto:josca@prv.upv.es)

<sup>6</sup> Departamento de Biología vegetal e ciencias do solo, Universidad de Vigo, Campus Lagoas-Marcosende, 36310 Vigo, SPAIN.

[adela@uvigo.es](mailto:adela@uvigo.es)

**Resumen:** En este trabajo se estudió el potencial de diferentes aceites esenciales de las especies mediterráneas *Eriosephalus africanus*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Thymbra capitata*, *Mentha x piperita* y *Santolina chamaecyparissus*, para el control de *Echinochloa crus-galli*, una de las arvenses más problemáticas en el cultivo del arroz y con incidencia en numerosos cultivos a nivel mundial.

Los aceites se ensayaron *in vitro* y, en condiciones de invernadero, en pre emergencia a diferentes dosis, para analizar su potencial para controlar esta arvense y determinar las dosis más adecuadas.

Todos los aceites esenciales estudiados demostraron efectos fitotóxicos tanto *in vitro* como en invernadero frente a *E. crus-galli*, dependiendo los efectos de la dosis suministrada. Los mejores resultados *in vitro* se obtuvieron con los aceites esenciales de *T. capitata*, seguido de los aceites de *Mentha x piperita* y *E. camaldulensis*. En los ensayos en invernadero, después de cuatro semanas, el aceite esencial de *S. chamaecyparissus* fue el más efectivo, reduciendo la germinación de *E. crus-galli* un 59,3%. Le siguieron en efectividad los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *T. capitata*.

**Palabras clave:** actividad herbicida, aceites esenciales, control de arvenses, *Echinochloa crus-galli*, herbicidas naturales, germinación

## 1. Introducción

El género *Echinochloa* pertenece a la familia Poaceae. Incluye un número importante de las malas hierbas más problemáticas que se encuentran en los cultivos de arroz en todo el mundo. Comprende alrededor de unas 50 especies, anuales y perennes. Algunas se adaptan bien a las condiciones húmedas y con frecuencia germinan y crecen en agua durante todo su ciclo de vida. Debemos destacar entre ellas *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. y *E. colona* (L.) Link. Ambas especies se encuentran en regiones templadas y tropicales de casi todo el mundo. Se presentan como malas hierbas en más de 60 países, 36 cultivos diferentes, y se concentran principalmente en una zona latitudinal desde 50 N a 40 S (Holm *et al.*, 1991).

*Echinochloa crus-galli* está ampliamente distribuida y es difícil de clasificar. La aparente diversidad de formas se asocia con una elevada plasticidad fenotípica, con una capacidad de adaptación a gran cantidad de hábitats (Maun y Barrett, 1986). Es variable en forma de crecimiento, momento de floración, arquitectura de las inflorescencias, pigmentación de la antocianina y longitud de hojas. Es una planta estival, con reproducción y propagación por medio de semillas. A nivel mundial es la segunda especie con mayor resistencia a herbicidas, habiendo desarrollado resistencias a 9 mecanismos de acción. En España se han descrito biotipos resistentes a los herbicidas de los grupos B (inhibidores de la enzima cloroplástica acetolactato sintetasa, que cataliza la síntesis de aminoácidos de cadena ramificada como valina, leucina e isoleucina, y cuya deficiencia provoca una disminución en la síntesis de proteínas que conduce a una caída drástica en la tasa de división celular) y C1 (inhibidores de la fotosíntesis en el Fotosistema II) (Heap, 2019).

En este trabajo se estudió el potencial de diferentes aceites esenciales de las especies mediterráneas *Eriosephalus africanus* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Thymbra capitata* (L.) Cav., *Mentha x piperita* L. y *Santolina chamaecyparissus* L. como alternativa a los herbicidas sintéticos, para el control de *E. crus-galli*. Estos aceites ya habían demostrado su potencial herbicida para el control de especies arvenses en trabajos previos (Grosso *et al.*, 2010; Verdeguer, 2011; Ibañez, 2017).

## 2. Material y Métodos

Las semillas de *E. crus-galli* utilizadas en los diferentes ensayos fueron adquiridas a la empresa Herbiseed.

Los ensayos *in vitro* se realizaron en cámara de germinación de la marca Climas modelo APG-GROW. Se colocaron 10 semillas en placas Petri de 9 cm de diámetro utilizando como sustrato papel de filtro de 75 g/m<sup>2</sup> de espesor (dos discos por debajo y dos discos por encima de las semillas) humedecidos con 6 ml de agua o la concentración correspondiente de aceite esencial. Los tratamientos ensayados se recogen en la Tabla 1. Por cada tratamiento se realizaron 10 repeticiones. Las placas se sellaron con Parafilm y se incubaron durante 14 días, a 30,0±0,1°C durante 16 horas de luz, y 20,0±0,1°C

durante 8 horas de oscuridad. Se llevaron a cabo conteos de las semillas germinadas en todas las placas a los 3, 5, 7, 10 y 14 días del comienzo del ensayo.

Tabla 1. Tratamientos aplicados en los ensayos *in vitro*.

Concentración ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Aceites esenciales				
	<i>T. capitata</i>	<i>M. x piperita</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>E. africanus</i>	<i>S. chamaecyparissus</i>
0 (control)	x	x	x	x	x
0,25	x	x	x	x	x
0,50	x	x	x	x	x
1,0	x	x	x	x	x
2	x	x	x	x	x
4	-	-	-	x	x
8	-	-	-	x	x

El ensayo en invernadero se realizó en el mes de agosto de 2016. Se prepararon 10 macetas de 8 x 8 x 7 cm., por cada tratamiento (10 repeticiones). Las macetas se llenaron con 6 g de perlita en la base, y 200 g de suelo agrícola procedente de cultivo de cítricos abandonado localizado en Puzol (Valencia). En cada maceta se colocaron 10 semillas. Los tratamientos aplicados fueron: control (agua) y control Fitoil (agua más Fitoil, producto a base de aceite de soja de la empresa Xeda Italia, utilizado para emulsionar los aceites esenciales, a la dosis de 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), y las dosis de 2, 4 y 8  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , para cada uno de los aceites ensayados. Se realizó una única aplicación para todos los tratamientos: 30 ml mediante riego. Se realizaron conteos periódicos de las semillas germinadas en cada maceta, durante 4 semanas. Durante este tiempo las macetas fueron mantenidas a capacidad de campo, regándolas cada dos días.

Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos, verificando previamente la homocedasticidad de los datos mediante el test de Levene. Los porcentajes de germinación se transformaron antes de proceder a realizar el ANOVA mediante la fórmula  $y = \arcsen \sqrt{x}$ , donde x era el porcentaje de germinación en tanto por uno. El ANOVA se realizó utilizando el test de comparación múltiple de Fisher (intervalos LSD, *Least Significant Difference*) para la separación de medias, con un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ).

### 3. Resultados y Discusión

En los ensayos *in vitro*, el aceite esencial que mayor potencial herbicida mostró para el control de la germinación de las semillas de *E. crus-galli*, fue el de *T. capitata*, que inhibió un 100 % la germinación en las dosis 0,5, 1 y 2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , seguido del aceite esencial *Mentha x piperita*, con 100 % de inhibición a la dosis de 2  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Les siguió en efectividad el aceite esencial de *E. camaldulensis* y por último los aceites esenciales de *E. africanus* y *S. chamaecyparissus* (Tabla 2). Se realizó un segundo ensayo con estos dos últimos aceites esenciales, aplicándolos a dosis más altas (4 y 8  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) para

conseguir un mayor control en la germinación de la arvense y se obtuvieron los porcentajes máximos de inhibición de 98,8 y 96,4% respectivamente (Tabla 3).

Tabla 2. Germinación de semillas de *E. crus-galli* tratadas con aceites esenciales de *T. capitata*, *Mentha x piperita*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* y *S. chamaecyparissus* *in vitro*.

Germinación (%) ± e.e.					
Concentración (µL/mL)	<i>T. capitata</i>	<i>Mentha x piperita</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>E. africanus</i>	<i>S. chamaecyparissus</i>
0 (control)	84,0 ± 3,4 a	84,0 ± 3,4 a	79,0 ± 5,3 a	71,0 ± 4,6 a	71,0 ± 4,6 ab
0,25	8,0 ± 4,7 b	52,0 ± 7,0 b	77,0 ± 4,0 ab	62,2 ± 6,2 ab	82,0 ± 3,6 a
0,5	0,0±0,0	27,0 ± 9,1 c	56,0 ± 6,0 b	54,0 ± 6,9 b	75,0 ± 4,5 ab
1	0,0±0,0	5,0 ± 4,0 d	31,0 ± 6,2 c	49,0 ± 4,8 bc	63,0 ± 7,5 b
2	0,0±0,0	0,0±0,0	16,0 ± 5,2 d	39,0 ± 3,5 c	32,0 ± 6,6 c

Tabla 3. Germinación de semillas de *E. crus-galli* tratadas con aceites esenciales de *E. africanus* y *S. chamaecyparissus* *in vitro*.

Germinación (%) ± e.s.		
Concentración (µL/mL)	<i>E. africanus</i>	<i>S. chamaecyparissus</i>
0 (control)	84,0 ± 3,1 a	84,0 ± 3,1 a
4	15,0 ± 4,5 b	7,0 ± 2,6 b
8	1,0 ± 1,0 c	3,0 ± 3,0 b

En los ensayos en invernadero, después de cuatro semanas, el aceite esencial de *S. chamaecyparissus* fue el más efectivo, reduciendo la germinación de *E. crus-galli* un 59,3%. Le siguieron en efectividad los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *T. capitata* (Tabla 4).

Existen estudios previos que demuestran el potencial herbicida de diferentes aceites esenciales para el control de arvenses y en concreto para controlar *E. crus-galli* (Angelini *et al.*, 2003; Vishwakarma y Mittala, 2014). En nuestros ensayos las dosis utilizadas son menores que las probadas en otros trabajos (Önen *et al.*, 2002).

El potencial herbicida de los aceites esenciales que se evaluaron tanto *in vitro* como en invernadero dependió de la dosis a la que se aplicaron y de las condiciones en las que actuaron. No se obtuvieron los mismos resultados *in vitro* que en condiciones de invernadero, perdiendo efectividad los aceites al pasar a condiciones de invernadero. Esto pudo ser debido a la volatilización de algunos de los componentes presentes en los aceites esenciales o a la baja persistencia de sus compuestos (Pavela and Benelli, 2016).

Los aceites esenciales ensayados mostraron efectos fitotóxicos frente a *E. crus-galli* en condiciones de invernadero, por lo que presentan buen potencial como herbicidas naturales para el control de esta arvense. Es necesaria una formulación adecuada de los mismos para dotarlos de mayor estabilidad y poder usarlos a gran escala, y también se deben realizar ensayos en condiciones de campo para verificar su eficacia.

Tabla 4. Germinación de semillas de *E. crus-galli* tratadas con aceites esenciales de *T. capitata*, *Mentha x piperita*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* y *S. chamaecyparissus* en ensayo de invernadero.

<i>Germinación de semillas E. crus-galli (%) ± e.e.</i>					
Concentración ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	<i>T. capitata</i>	<i>Mentha x piperita</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>E. africanus</i>	<i>S. chamaecyparissus</i>
0 (control agua)	89,0 ± 2,8 a	89,0 ± 2,8 a	89,0 ± 2,8 a	89,0 ± 2,8 a	89,0 ± 2,8 a
0 (control agua + Fitoil)	86,0 ± 2,7 a	86,0 ± 2,7 a	86,0 ± 2,7 a	86,0 ± 2,7 a	86,0 ± 2,7 ab
2	70,0 ± 4,9 b	63,0 ± 5,4 b	63,0 ± 4,0 b	70,0 ± 3,9 b	74,0 ± 5,4 bc
4	58,0 ± 5,3 bc	61,0 ± 5,9 b	59,0 ± 5,5 b	66,0 ± 5,6 b	64,0 ± 4,8 c
8	45,0 ± 6,4 c	55,0 ± 4,5 b	39,0 ± 4,1 c	60,0 ± 5,4 b	35,0 ± 7,8 d

## Referencias

- ANGELINI LG, CARPANESE G, CIONI PL, MORELLI I, MACCHIA M, FLAMINI G (2003). Essential oils from Mediterranean lamiaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 6158-6164.
- GROSSO C, COELHO JA, URIETA J, PALAVRA AMF, BARROSO JG (2010) Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton lavender, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 11007–11013.
- HEAP I (2019). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. Accedido Viernes 31 mayo 2019. [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)
- HOLM LG, PLUCKNETT DL, PANCHO JV, HERBERGER JP (1991). *The World's Worst Weeds: Distribution and Biology*. The University Press of Hawaii, Malabar, Florida, USA.
- IBAÑEZ E. (2017) *Estudio del potencial herbicida del aceite esencial de Mentha longifolia (L.) L. para su posible aplicación como herbicida natural frente a arvenses de cultivos mediterráneos*. Proyecto final de carrera. Universitat Politècnica de València. España.
- MAUN MA, BARRETT SCH (1986). The biology of Canadian weeds. 77. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Canadian Journal of Plant Science* **66**: 739-759.
- ÖNEN H, OZER Z, TELCI I (2002) Bioherbicidal effects of some plant essential oils on different weed species. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Sonderheft XVIII 597-605.

PAVELA R, BENELLI G (2016). Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends in Plant Science* **21**: 1000-1007.

VERDEGUER M (2011) *Fitotoxicidad de aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas para el control de arvenses*. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València. España.

VISHWAKARMA GS & MITTAL S (2014) Bioherbicidal Potential of Essential Oil from Leaves of *Eucalyptus tereticornis* against *Echinochloa crus-galli* L. *Journal of Biopesticides* **7**: 47-53.

## **Herbicidal potential of essential oils from Mediterranean plants to control *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv**

**Summary:** In this work, the potential of different essential oils of the Mediterranean species *Eriocephalus africanus* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Thymbra capitata* (L.) Cav., *Mentha x piperita* L. and *Santolina chamaecyparissus* L. to control *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. was studied, being *E. crus-galli* one of the most problematic weeds in rice cultivation and with incidence in numerous crops worldwide.

The oils were tested *in vitro* and also under greenhouse conditions, in pre-emergence at different doses, to analyze their potential to control this plant and to determine the most appropriate doses.

All the essential oils studied showed phytotoxic effects both *in vitro* and under greenhouse conditions against *E. crus-galli*, the observed effects depending on the dose supplied. The best *in vitro* results were obtained from the essential oils of *T. capitata*, followed by *Mentha x piperita* and *E. camaldulensis*. In the greenhouse trials, after four weeks, the essential oil of *S. chamaecyparissus* was the most effective, reducing the germination of *E. crus-galli* by 59.3%, followed by the essential oils of *E. camaldulensis* and *T. capitata*.

**Keywords:** herbicidal activity, essential oils, weed control, *Echinochloa crus-galli*, natural herbicides, germination