

Uso de hidrolatos de plantas aromáticas para el control de cuatro especies de malas hierbas

Use of hydrolates from aromatic plants for the control of four weed species

Juliana Navarro¹, David Gimeno¹, Jorge Pueyo², M^a Pilar Villar², Gabriel Pardo^{2,3}, Alicia Cirujeda^{2,3,*}

¹Departamento de Ciencia Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA); Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, España

²Departamento de Sistemas Agrícolas, Forestales y Medio Ambiente, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA); Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, España

³Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2, CITA Universidad de Zaragoza, España

(*E-mail: acirujeda@aragon.es)

<https://doi.org/10.19084/rca.34966>

Recibido/received: 2024.01.15

Aceptado/accepted: 2024.02.28

RESUMEN

Durante el proceso de destilación de plantas aromáticas se genera un subproducto líquido llamado hidrolato que, en condiciones *in vitro*, se sabe que tiene propiedades herbicidas. El siguiente paso para estudiar una posible actividad antigerminante sería utilizar el producto en condiciones de invernadero. Para ello se realizaron tres ensayos, en grandes macetas, utilizando hidrolatos de lavanda (*Lavandula intermedia* var. Súper) y de *Artemisia absinthium* a dos dosis diferentes. Como especies diana se sembraron *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., *Sonchus oleraceus* L., *Datura stramonium* L. y *Conyza bonariensis* (L.) Cronq. En los tres ensayos se utilizaron las mismas poblaciones de arvenses y se hicieron 4 repeticiones por tratamiento. Los resultados mostraron una reducción de la emergencia más o menos acusada en las 4 especies al aplicar ambos hidrolatos ya desde la menor dosis. Las arvenses más sensibles a los hidrolatos fueron *S. oleraceus* y *C. bonariensis* con una reducción de la emergencia que osciló entre un 8 y un 100% dependiendo del ensayo sin una marcada diferencia en el tipo de hidrolato. La emergencia de *E. crus-galli* fue la menos afectada por la acción de los hidrolatos. La baja tasa de emergencia de *D. stramonium* en dos de los ensayos y los resultados algo irregulares en el otro requieren de una repetición de los ensayos tratando de analizar algunos factores en mayor detalle, como el riego, que pudo haber causado el lavado de la fracción bioactiva del hidrolato.

Palabras clave: alelopatía, fitotoxicidad, herbicida natural, reducción de emergencia, bioherbicidas.

ABSTRACT

During the distillation process of aromatic plants a liquid byproduct so called hydrolate is produced which is known to have some herbicidal activity *in vitro*. The next step to study a possible inhibition of germination would be to use the product in greenhouse conditions. With this aim three trials were carried out in big pots using hydrolates of lavender (*Lavandula intermedia* var. Super) and of *Artemisia absinthium* at two different rates. As target weed species *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., *Sonchus oleraceus* L., *Datura stramonium* L. and *Conyza bonariensis* (L.) Cronq. were seeded. The same weed populations were used in the three trials and 4 replicates were conducted. The results showed a more or less pronounced reduction in weed emergence depending on the species already at the lower rates of the hydrolates. The most susceptible species were *S. oleraceus* and *Conyza bonariensis* with an emergence reduction between 8 and 100% depending on the trial without a marked difference in the type of hydrolate. *E. crus-galli* was the least affected by the action of hydrolates. The low emergence of *D. stramonium* in two of the trials and quite irregular results in the other suggest that more trials should be conducted focusing on analysing some of the factors more in detail such as the irrigation, that could have washed out the bioactive fraction of the hydrolates.

Keywords: allelopathy, phytotoxicity, natural herbicide, emergence reduction, bioherbicides.

INTRODUCCIÓN

Durante la destilación por arrastre de vapor de aceites esenciales, se genera una gran cantidad de un subproducto líquido llamado hidrolato, los cuales retienen una bajísima concentración de los compuestos presentes en el aceite esencial, que son más hidrofílicos. A pesar de que dichos compuestos se encuentran en muy bajas concentraciones, los hidrolatos ejercen actividades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas (Dindo *et al.*, 2021; Jakubczyk *et al.*, 2021; Pino-Otín *et al.*, 2022).

Los hidrolatos procedentes de la destilación de plantas medicinales y aromáticas (PAM) han sido consideradas como productos de desecho (Ortiz *et al.*, 2022), juntamente con los residuos sólidos (biomasa destilada) y las aguas residuales. No obstante, la comunidad científica está reconsiderándolo y estudia su posible funcionalidad (Julio *et al.*, 2017; Tavares *et al.*, 2020; Gaspar-Pintilieșcu *et al.*, 2022). Debido al creciente interés por los productos naturales, es importante comprender las actividades biológicas para ampliar sus aplicaciones en los campos agroalimentario, farmacéutico o cosmético. Además, el control de malas hierbas en este grupo de cultivos es un tema complejo, debido a las escasas materias activas herbicidas disponibles aparte de la elevada demanda de producto en ecológico que impide usar herbicidas (Demarco *et al.*, 1999), por lo que si se demuestra un efecto herbicida de estos hidrolatos sería de gran interés también en este escenario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en un invernadero de cristal con ventilación lateral forzada. Se iniciaron en mayo 2022 y 2023 y en septiembre de 2022 y se terminaron cuando no se produjeron nuevas emergencias en 3 días consecutivos. Las macetas

utilizadas tuvieron 28 cm en altura y 39 cm en diámetro; los primeros 10 cm se llenaron de arcilla expandida (8 a 16 mm, Burés, Castelldefels, Barcelona) y el resto se llenó de sustrato de hortícolas (ProHumin Klasmann-Deilmann). Las macetas se regaron hasta alcanzar capacidad de campo y se dejaron reposar hasta el día siguiente. Entonces, las semillas se colocaron en la superficie de las macetas, cada especie en un cuarto del círculo y se taparon con un volumen de 1024 cm³ del mismo sustrato. Los hidrolatos se aplicaron inmediatamente después utilizando un pulverizador manual, a razón de 200 ml por maceta. Las macetas destinadas a servir de testigos fueron regadas con 200 ml cada una con el fin de equiparar el aporte de líquidos. Durante el desarrollo de los ensayos, las macetas fueron regadas cuando se consideró necesario; en el primer ensayo se regó con 250-500 ml tres veces en los primeros 10 días y, debido a que el sustrato se secaba mucho, se decidió realizar un último riego por inmersión durante 30 minutos; en el ensayo 2 solo fueron necesarios 4 riegos de 500 ml cada uno y en el tercer ensayo fueron 5 riegos de la misma cuantía.

Las destilaciones de las cuales se obtuvieron los hidrolatos se realizaron en una planta piloto de arrastre de vapor ubicada en el CITA, de acero inoxidable, de 500 l de capacidad. La destilación se realiza con 0,4 bares de presión, durante 1 h. Se utilizaron hidrolatos de lavanda (*Lavandula intermedia* var. Súper) y de *Artemisia absinthium* a dosis completa tal y como se obtienen y a mitad de dosis, diluida con agua destilada. Se llevaron a cabo conteos de las emergencias cada dos días hasta concluir los ensayos. Se realizó el cálculo de eficacia con Abbot (100-(tratamiento/testigo)*100); al no cumplir con los criterios de normalidad ni tampoco tras la transformación de los datos, se realizó un análisis no paramétrico mediante el test de Kruskal-Wallis utilizando el programa R versión 2.15.0 (R Core Development Team, 2019).

Tabla 1 - Detalles de los ensayos realizados. E: *Echinochloa crus-galli*, S: *Sonchus oleraceus*, D: *Datura stramonium*, C: *Conyza bonariensis*

	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Siembra y aplicación hidrolatos	05/05/2022	13/09/22	23/05/2023
Nº de semillas	E: 20 S: 10 D: 15 C: indeterminado	E: 20 S: 15 D: 10 C: indeterminado	E: 22 S: 22 D: 22 C: 30
Finalización ensayo	06/06/2022	03/10/2022	26/06/2023

RESULTADOS

La germinación de las cuatro especies fue desigual, aunque en los tres ensayos germinaron mejor *S. oleraceus* y *E. crus-galli*; *C. bonariensis* germinó suficientemente bien en los dos primeros ensayos (E1, E2) (Tabla 2) pero no en el tercero (E3), posiblemente porque en ese caso se compactó ligeramente el sustrato antes de aplicar los hidrolatos. Debido a las bajas emergencias de *D. stramonium* no se tuvieron en cuenta los resultados para esta especie en E1 y E2 y tampoco se consideró *C. bonariensis* en E3 por el mismo motivo.

Tabla 2 - Número de plántulas emergidas en los testigos de los tres ensayos (media \pm error estándar)

	Ensayo 1 (E1)	Ensayo 2 (E2)	Ensayo 3 (E3)
<i>Echinochloa crus-galli</i>	14,5 \pm 0,65	7,3 \pm 1,38	14,5 \pm 1,66
<i>Sonchus oleraceus</i>	8,0 \pm 0,41	15,8 \pm 1,70	17,3 \pm 3,77
<i>Conyza</i> sp.	18,0 \pm 3,92	27,3 \pm 11,58	3,3 \pm 1,65
<i>Datura stramonium</i>	3,3 \pm 0,85	0,5 \pm 0,29	6,0 \pm 2,48

En general se han observado reducciones irregulares en la emergencia dependiendo de la especie y del ensayo (Tabla 3). El resultado más destacado fue la completa ausencia de germinación de *C. bonariensis* para el tratamiento L1 en E1, aunque el posible efecto herbicida fue mucho menor en E2 (Tabla 3). L1 mostró capacidad para reducir también la emergencia de *S. oleraceus* en los tres ensayos, pero con menor eficacia que la observada con *C. bonariensis*.

En gran parte de los casos (10 de 14) se observó una reducción mayor de la emergencia para las dosis elevadas de los hidrolatos y menores para las dosis bajas, confirmando *a priori* la actividad inhibidora en la germinación de ambos hidrolatos. Aparte de

la inhibición de la emergencia, no se observaron decoloraciones u otros síntomas en las hojas.

Se apreció un retraso en la emergencia en casi todos los casos por efecto de los hidrolatos (Figura 1). También para este parámetro las especies mostraron un comportamiento diferente según el ensayo y tipo de hidrolato (Figura 1): *E. crus-galli* solo mostró retraso en la germinación del hidrolato de lavanda en el primer ensayo, pero muy débil en los dos últimos, sin diferencias significativas, en ningún tratamiento, con el testigo. Esta observación está en consonancia con lo que exponen Soltys *et al.* (2013) indicando que las monocotiledóneas son generalmente más tolerantes a los aleloquímicos que las dicotiledóneas. Aún así, el retraso obtenido para esta especie en el primer ensayo fue apreciable hasta 20 días después de la aplicación (DDA).

La especie en la que más tiempo perduró el efecto de los distintos hidrolatos fue *S. oleraceus*, donde se apreciaron retrasos de hasta 24 DDA en la emergencia para uno u otro hidrolato, en los tres ensayos. En E1 destacó L1 seguido por A1, en E2, A 0,5 y en el tercero, A1 seguido por L1 y L 0,5. Por tanto, en términos generales, los resultados no siguieron una línea clara ni en cuanto a magnitud del efecto ni por los hidrolatos que lo causaron (Figura 1). De igual modo que para la germinación total, los hidrolatos de dosis elevada tuvieron una respuesta generalmente mayor respecto a los de dosis menor, confirmando la actividad herbicida de éstos en las condiciones experimentales, tanto en reducción de la germinación (Tabla 3) como en el retraso de la misma (Figura 1).

Para *C. bonariensis* se obtuvo un control del 100% con L1 en primer ensayo, y con el resto de los tratamientos hubo cierto retraso, pero no significativo frente al testigo. Por el contrario, en el segundo ensayo solo se observó un pequeño retraso en la segunda toma de datos, no significativo.

Tabla 3 - Eficacia de control de las diferentes especies calculada en base a las emergencias al final de cada ensayo comparado con las emergencias observadas en los testigos (%). L: lavanda, A: *Artemisia*, 0,5: mitad de dosis, 1: dosis completa

Ensayo Especie/tratamiento	Ensayo 1 (E1)				Ensayo 2 (E2)				Ensayo 3 (E3)			
	A 0,5	A 1	L 0,5	L 1	A 0,5	A 1	L 0,5	L 1	A 0,5	A 1	L 0,5	L 1
<i>Echinochloa crus-galli</i>	20,7	32,8	50,0	19,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,5	0,0	0,0
<i>Sonchus oleraceus</i>	18,8	53,1	31,3	81,3	27,2	20,9	22,5	25,6	8,7	68,1	4,3	14,5
<i>Conyza bonariensis</i>	83,3	68,1	81,9	100	42,2	0,0	0,0	28,4	-	-	-	-
<i>Datura stramonium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0	76,9	0,0	8,3

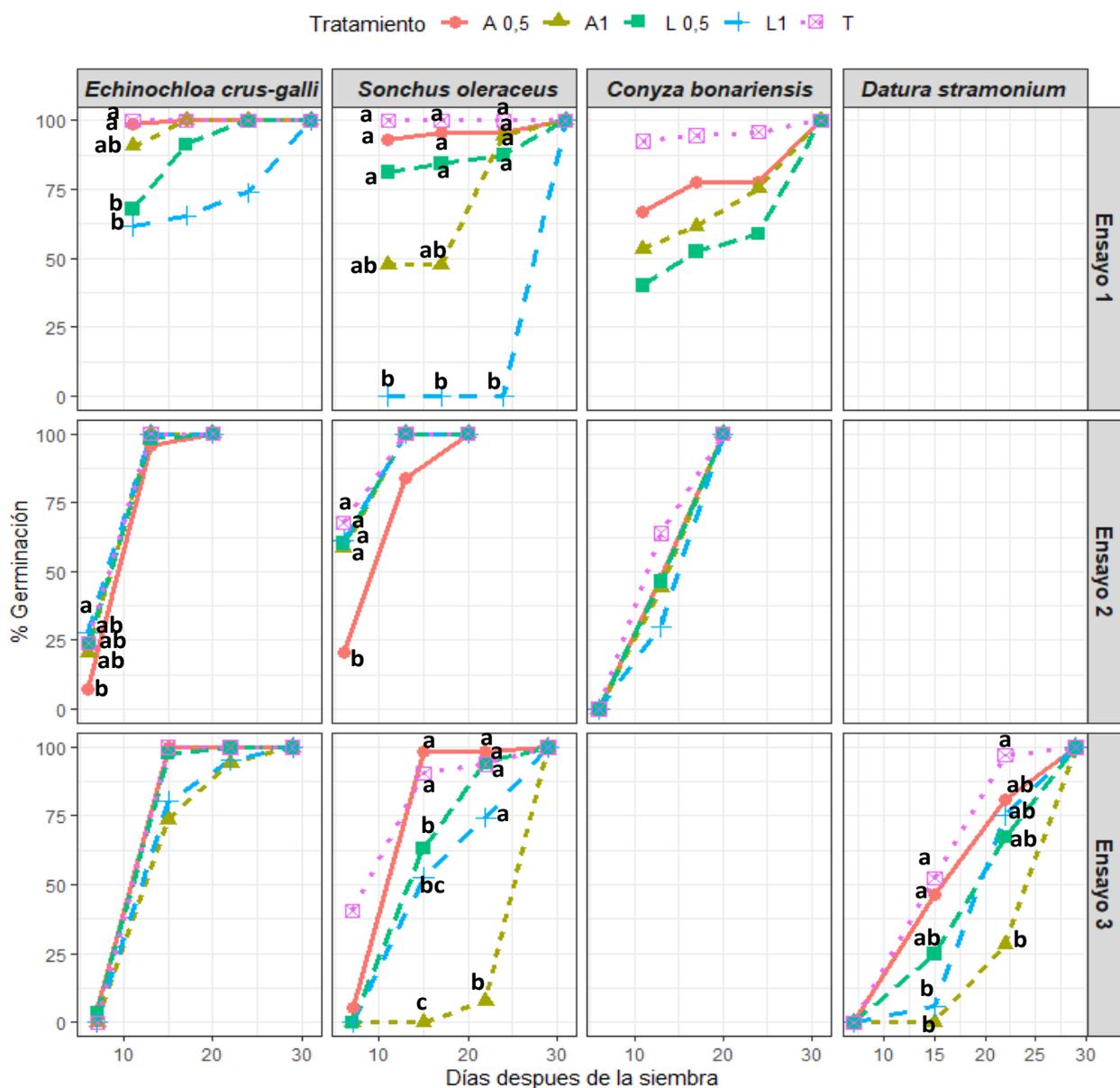


Figura 1 - Porcentaje de emergencias a lo largo del tiempo en los tres ensayos. Diferentes letras indican diferencias significativas según el test no paramétrico de Kruskal-Wallis con $P < 0.05$ en cada fecha ensayo y especie. En ensayo 1, *Conyza bonariensis* y L1 no hubo germinaciones, siendo el control total.

CONCLUSIONES

En los tres ensayos se ha confirmado una actividad antigerminativa y en el retraso de la emergencia y de los hidrolatos ensayados. Los resultados irregulares invitan a continuar las investigaciones

tratando de aislar los factores que han causado dichas variaciones, como lo pueden ser por ejemplo el aporte de agua de riego y la procedencia de los hidrolatos.

AGRADECIMIENTOS

Los trabajos han sido financiados por el proyecto PID2020-113865RR-C41 del Ministerio de Ciencia e Innovación y por el Grupo Consolidado PRO-VESOS A11-23R, financiado por el Gobierno de

Aragón. Agradecemos a D. Lasanta, N. Urcola, J. Castells y E. Armero su colaboración en la instalación y la toma de datos de los ensayos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Demarco, M.F.; Sarruggieri, H. & Lopez, M.A. (1999) - Good agricultural practices for the organic production of medicinal plants. *Acta Horticulturae*, vol. 502, p. 21–27.
- Dindo, M.L.; Modesto, M.; Rossi, C.; Di Vito, M.; Burgio, G; Barbanti, L. & Mattarelli, P. (2021) - *Monarda fistulosa* hydrolate as antimicrobial agent in artificial media for the in vitro rearing of the tachinid parasitoid *Exorista larvarum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, vol. 169, n. 1, p. 79-89. <https://doi.org/10.1111/eea.12964>
- Gaspar-Pintiliescu, A.; Prelipcean, A.M.; Mihai, E.; Ciucan, T.; Anton, R.E.; Popescu, A.F.; Tomescu J. & Craciunescu, O. (2022) - Free radicals scavenging, acetylhydrolase inhibition and antimicrobial activity of aromatic plant hydrolate mixtures. *Journal of Food Measurement and Characterization*, vol. 16, n. 5, p. 3589-3596. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01488-x>
- Jakubczyk, K.; Tuchowska, A. & Janda-Milzarek, K. (2021) – Plant hydrolates – antioxidant properties, chemical composition and potential applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 142, art. 112033. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112033>
- Julio, L.F.; González-Coloma, A.; Burillo, J.; Diaz, C.E. & Andrés, M.F. (2017) - Nematicidal activity of the hydrolate byproduct from the semi industrial vapor pressure extraction of domesticated *Artemisia absinthium* against *Meloidogyne javanica*. *Crop Protection*, vol. 94, p. 33-37. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.12.002>
- Ortiz de Elguea-Culebras, G.; Melero Bravo, E. & Sánchez-Vioque, R. (2022) - Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market – A review. *Industrial Crops and Products*, vol. 175, art. 114261. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114261>
- Pino-Otín, M.R.; Gan, C.; Terrado, E.; Sanz, M.A.; Ballester, D. & Langa, E. (2022) - Antibiotic properties of *Satureja montana* L. hydrolate in bacteria and fungus of clinical interest and its impact in non-target environmental microorganisms. *Science Reports*, vol. 12, art. 18460. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22419-2>
- R Core Development Team (2019) - *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Core Development Team: Vienna, Austria.
- Soltys, D.; Krasuska, U.; Bogatek, R. & Gniazdowska, A. (2013) - Allelochemicals as bioherbicides – present and perspectives. In: Andrew, J.P. & Jessica, A.K. (Eds.) - *Herbicides - Current research and case studies in use*. Rijeka: IntechOpen. p. 517-542. <http://dx.doi.org/10.5772/56185>
- Tavares, C.S.; Martins, A.; Faleiro, M.L.; Miguel, M.G.; Duarte, L.C.; Gameiro, J.A.; Roseiro, L.B. & Figueiredo, A.C. (2020) - Bioproducts from forest biomass: Essential oils and hydrolates from wastes of *Cupressus lusitanica* Mill. and *Cistus ladanifer* L. *Industrial Crops and Products*, vol. 144, art. 112034. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112034>