

La evaluación del desarrollo inicial de plántulas contribuye a la determinación de la potencialidad bioherbívica de aceites e hidrolatos de especies aromáticas

Lucía Torres^{1,2,✉}, Elvira A. Díaz Vizcaíno^{2,3}, Antonio Rigueiro¹

¹Departamento de Producción Vegetal y Proyectos de Ingeniería, EPS, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

²Departamento de Botánica, Escuela Politécnica Superior, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

³Instituto de Biodiversidad Agraria y Desarrollo Rural, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

✉ lucia.torres@usc.es

Resumen: Se ha realizado un seguimiento del desarrollo inicial (hasta 15 días) de las semillas germinadas, de dos especies de malas hierbas, obtenidas en bioensayos con concentraciones decrecientes de cuatro aceites y tres hidrolatos quimiotipados comerciales de orégano, romero y tomillo, establecidos para evaluar su potencialidad bioherbívica. Se han cuantificado las plántulas viables (bien desarrolladas y verdes) y las que no lo son (con clorosis y/o escaso desarrollo del epicotilo o hipocotilo). Los resultados muestran que aceites y/o hidrolatos que mostraron escasa potencialidad bioherbívica, especialmente a concentraciones bajas, pueden mostrar finalmente potencialidad elevada si se considera el desarrollo inicial de las plántulas, como es el caso de los hidrolatos estudiados.

Palabras clave: malas hierbas, fitotoxicidad, *Rumex obtusifolius* L., *Spergula arvensis* L., *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loeff. ex L.

1. INTRODUCCIÓN

En los numerosos estudios sobre la potencialidad bioherbívica de aceites y/o hidrolatos de plantas aromáticas, se evalúa habitualmente su efecto reductor sobre el nivel de germinación y sobre el crecimiento inicial, así como mediante la elaboración de índices de vigor de plántulas obtenidos a partir de dichos datos (Hussain and Reigosa, 2014), independientemente de su capacidad para desarrollar una nueva planta (Verdeguer et al., 2009, 2011; Blázquez and Carbó, 2015; Pinheiro et al., 2015; Santos et al., 2015), características sin duda relacionadas entre sí. Nuestros estudios sobre el control de la germinación de *Parietaria judaica* L. (Torres et al., 2014, 2016) han permitido detectar variabilidad en el desarrollo inicial de las plántulas (5-15 días) que posiblemente no pueda ser detectada analizando su crecimiento; por lo que hemos establecido la hipótesis de que la actividad fitotóxica no solamente se refleja en el nivel de germinación o en el crecimiento inicial, sino también en la viabilidad de las plántulas, por lo que la evaluación de su desarrollo inicial y más concretamente la determinación de dicha viabilidad, puede contribuir también, o incluso mejorar, a la caracterización de la actividad bioherbívica.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un seguimiento del desarrollo inicial (hasta 15 días) de todas las semillas germinadas de *Rumex obtusifolius* L. y *Spergula arvensis* L. en bioensayos de cuatro réplicas y 25 semillas cada una, con concentraciones decrecientes de cuatro aceites y tres hidrolatos quimiotipados comerciales de orégano, romero y tomillo y un control, establecidos previamente para evaluar su potencialidad bioherbívica sobre la germinación (Tabla 1).

Tabla 1. Productos comerciales (aceites esenciales –AE- e hidrolatos –H-) utilizados en los bioensayos de fitotoxicidad, caracterizando las especies quimiotipadas (*Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. y *Thymus zygis* Loefl. ex L.), y potencialidad bioherbida sobre la germinación de *Rumex obtusifolius* (ROB) y *Spergula arvensis* (SAR) en cada uno de los productos, estudiados en dosificaciones decrecientes, y el control. MB: muy baja; B: baja; M: media; E: elevada; ME: muy elevada

| Producto | Quimiotipo | Dosis | Germinación | |
|---|------------|---------|-------------|-----|
| | | | Rob | Sar |
| Control | – | 2.00 ml | ME | ME |
| AE <i>Rosmarinus officinalis</i> (AERO-C) | 1,8 Cineol | 4.00 µl | MB | MB |
| | | 2.00 µl | MB | MB |
| | | 1.00 µl | E | MB |
| | | 0.50 µl | – | B |
| AE <i>Thymus vulgaris</i> (AETV-L) | Linalol | 4.00 µl | ME | B |
| | | 2.00 µl | – | M |
| | | 1.00 µl | – | – |
| | | 0.50 µl | – | – |
| AE <i>Origanum vulgare</i> (AEOV-) | – | 4.00 µl | M | MB |
| | | 2.00 µl | ME | B |
| | | 1.00 µl | – | B |
| | | 0.50 µl | – | B |
| AE <i>Thymus zygis</i> (AETZ-T) | Timol | 4.00 µl | MB | MB |
| | | 2.00 µl | M | MB |
| | | 1.00 µl | ME | B |
| | | 0.50 µl | – | M |
| H <i>Thymus vulgaris</i> (HTV-T) | Timol | 2.00 ml | M | MB |
| | | 1.00 ml | ME | MB |
| | | 0.50 ml | ME | ME |
| | | 0.25 ml | – | ME |
| H <i>Origanum vulgare</i> (HOV-) | – | 2.00 ml | MB | MB |
| | | 1.00 ml | M | MB |
| | | 0.50 ml | ME | M |
| | | 0.25 ml | - | ME |
| H <i>Thymus zygis</i> (HTZ-T) | Timol | 2.00 ml | MB | MB |
| | | 1.00 ml | E | MB |
| | | 0.50 ml | ME | ME |
| | | 0.25 ml | – | ME |

Para ello diariamente se han retirado las semillas germinadas (número variable según el nivel de germinación indicado en la tabla 1) en cada réplica de aceite e hidrolato, transfiriéndolas a nuevas placas de tratamiento (preparadas simultáneamente al bioensayo previo) e identificándolas según su edad, para construir cada nueva réplica se ha homogeneizado la distribución temporal de la germinación.

Dicho seguimiento ha consistido en la cuantificación de plántulas viables (bien desarrolladas y verdes) y de las que no lo son (con clorosis y/o escaso desarrollo del epicotilo o hipocotilo) transcurridos los 5 primeros días de desarrollo, verificando dicha cuantificación transcurridos los 15 días. La proporción media de plántulas no viables en cada tratamiento se ha comparado mediante el ANOVA, y el test DMS (Diferencia Mínima Significativa) *a posteriori* ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría de los aceites e hidrolatos afectaron al desarrollo inicial de las plántulas de las dos especies a la dosificación más elevada estudiada, reduciendo su viabilidad, que resultó muy baja (0-3.70%); con la excepción del aceite de romero para *Rumex obtusifolius* L. en el que la mayor parte (99%) fueron viables (motivo por el que no se han ensayado dosificaciones más bajas) (Tabla 2).

Al reducir la dosificación, inicialmente se mantuvo dicho efecto fitotóxico en la mayoría de los aceites e hidrolatos de las dos especies, que presentaron un nivel bajo o muy bajo de plántulas viables (0-12.15%); con la excepción de aceite de tomillo linalol, con una proporción muy elevada (98.96%). Con la tercera dosificación continuó apreciándose la toxicidad de todos los productos en las plántulas de *Spergula arvensis*, pero no en las de *Rumex obtusifolius*, con una viabilidad muy baja o baja en los aceites de orégano y tomillo timol (2.22-26.98%), pero media o elevada en los hidrolatos (37.13-82.29%). Finalmente, en la dosificación más baja, realizada únicamente en *Spergula arvensis*, la proporción de plántulas viables resultó media o elevada en casi todos los productos, con la excepción del aceite de orégano, en el que continuó siendo muy baja.

Puesto que la potencial actividad herbicida de aceites e hidrolatos de plantas aromáticas se analiza habitualmente evaluando el nivel de germinación de las semillas de las especies a controlar y/o el crecimiento inicial (5 días) de las plántulas (Verdeguer et al., 2009, 20011; Blázquez and Carbó, 2015), así como mediante la elaboración de índices de vigor de plántulas obtenidos a partir de dichos datos (Hussain and Reigosa, 2014), nuestra aportación requiere realizar, además de los bioensayos dosis-respuesta, una evaluación individualizada del aspecto de las plántulas determinando su capacidad para desarrollar una planta adulta, y los resultados obtenidos demuestran que puede contribuir a caracterizar dicha potencialidad.

En efecto, productos como los hidrolatos con un nivel de germinación elevado o muy elevado tanto en *Rumex obtusifolius* como en *Spergula arvensis*, pueden ser evaluados inicialmente con escasa potencialidad bioherbicida; sin embargo, mientras en la primera la proporción de plántulas viables es media o elevada, en la segunda es muy baja, manifestando una potencialidad mayor según la especie.

La realización de nuevos estudios en esta línea, ampliando tanto los productos evaluados como las especies ensayadas, permitirá determinar en qué medida la viabilidad de las plántulas debe ser considerada en la evaluación de la potencial actividad fitotóxica.

Tabla 2. Plántulas viables (%) de *Rumex obtusifolius* y *Spergula arvensis* en cada uno de los aceites e hidrolatos estudiados en dosificaciones decrecientes a los cinco días de desarrollo. AEOV-: aceite esencial de *Origanum vulgare*; AERO-C: aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* cineol; AETV-L: aceite esencial de *Thymus vulgaris* linalol; AETZ-T: aceite esencial de *Thymus zygis* timol; HOV-: hidrolato de *Origanum vulgare*; HTV-T: hidrolato de *Thymus vulgaris* timol; HTZ-T: hidrolato de *Thymus zygis* timol

| Producto | Dosis | Plántulas viables (%) | |
|----------|---------|---------------------------|--------------------------|
| | | <i>Rumex obtusifolius</i> | <i>Spergula arvensis</i> |
| C | 2.00 ml | 98.99±1.01 ^a | 100.00±0.00 ^a |
| AERO-C | 4.00 µl | 99.19±0.81 ^a | 22.22±22.22 ^b |
| | 2.00 µl | — | 100±0.00 ^c |
| | 1.00 µl | — | — |
| | 0.50 µl | — | — |
| AETV-L | 4.00 µl | 3.70±3.70 ^b | — |
| | 2.00 µl | 98.96±1.04 ^a | 13.33±6.67 ^b |
| | 1.00 µl | — | 41.67±8.33 ^c |
| | 0.50 µl | — | 87.50±7.22 ^d |
| AEOV- | 4.00 µl | — | — |
| | 2.00 µl | — | — |
| | 1.00 µl | 2.22±2.22 ^b | 0.00±0.00 ^b |
| | 0.50 µl | — | 0.00±0.00 ^b |
| AETZ-T | 4.00 µl | — | — |
| | 2.00 µl | 0±0.00 ^b | — |
| | 1.00 µl | 26.98±12.10 ^c | 0.00±0.00 ^b |
| | 0.50 µl | — | 41.35±14.24 ^c |
| HTV-T | 2.00 ml | 0±0.00 ^b | — |
| | 1.00 ml | 0±0.00 ^b | — |
| | 0.50 ml | 37.13±8.92 ^c | 0.00±0.00 ^b |
| | 0.25 ml | — | 51.34±1.16 ^c |
| HOV- | 2.00 ml | 0.00±0.00 ^b | — |
| | 1.00 ml | 12.15±4.64 ^c | 0.00±0.00 ^b |
| | 0.50 ml | 82.29±3.23 ^d | 3.93±2.70 ^b |
| | 0.25 ml | — | 86.73±9.63 ^c |
| HTZ-T | 2.00 ml | — | — |
| | 1.00 ml | 6.35±3.86 ^b | — |
| | 0.50 ml | 51.02±4.12 ^c | 0.00±0.00 ^b |
| | 0.25 ml | — | 95.00±4.19 ^a |

4. REFERENCIAS

- Blázquez MA & Carbó E (2015). Control of *Portulaca oleracea* by boldo and lemon essential oils in different soils. *Industrial Crops and Products*, 515-521.
- Hussain MI & Reigosa M (2014). Evaluation of herbicide potential of sesquiterpene lactone and flavonoid: impact on germination, seedling growth indices and root length in *Arabidopsis thaliana*. *Pakistan Journal of Botany*, 46, 995-1000.
- Pinheiro PF, Costa AV, Alves TD, Gaiter IN, Pinheiro CA, Pereira AF, OLiveira CMR and Fontes MMP (2015). Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, carvacrol, and Thymol in plant bioassays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 8981-8990.
- Santos CA, Cardodo MD, Moreira ML, Silva AC and de Andrade J (2015). Chemical characterisation and allelopathic potential of essential oils from leaves and rhizomes of White ginger. *Ciencia Agronomica*, 46, 555-562.
- Torres L, Díaz-Vizcaíno EA and Rigueiro A (2014). Effect of blue gum, silver wattle and common gum cistus extracts on seed germination and seedlings development of *Parietaria judaica* L. *Organic Agriculture. International Symposium*. Pedrol N, Puig CG and Souza-Alonso P, p. 36. Tórculo Comunicación Gráfica S.A., Santiago de Compostela.
- Torres L, Díaz-Vizcaíno EA and Rigueiro A (2016). Efecto de hidrolatos de romero y tomillo sobre la germinación y el desarrollo de plántulas de *Parietaria judaica* L. *XII Congreso SEAE*. Sociedad Española de Agricultura Ecológica/Sociedad Española de Agroecología (SEAE), pp. 200-207. IMAG-Impressions S.L., Valencia.
- Verdeguer M, Blázquez A and Boira H (2009). Phytotoxic effects of *Lantana cámara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37, 362-369.
- Verdeguer M, Blázquez A and Boira H (2011). Chemical composition and herbicidal activity of the essential oil from a *Cistus ladanifer* L. population from Spain. *Natural Product Research*, 26, 1602-1609.

The evaluation of the initial development of seedlings contributes to the determination of the bioherbicide potential of oils and hydrolates of aromatic species

Summary: Seedling development of two weed species has been studied during fifteen days on germinated seeds obtained in bioassays after applying decreasing concentrations of four commercial essential oils and three hydrolates (oregano, rosemary and thyme) and their chemotypes, which were tested for their herbicide potential. Viable (green coloured, well developed) and no viable (chlorosis and/or poor hypocotyl or epicotyl development) seedlings have been quantified. The results show that essential oils and/or hydrolates which showed little herbicide potential, especially at low concentrations, when considering the germination level, show high potential when analysing initial seedling development.

Keywords: weeds, phytotoxicity, *Rumex obtusifolius* L., *Spergula arvensis* L., *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loefl. ex L.