



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA HERBICIDA DE EXTRACTOS DE *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus*

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magíster en Ciencias Agropecuarias, Área de Especialización: Producción de Cultivos

JOAQUÍN ROTHMUND ÁLAMOS

Director de Tesis
Ricardo Pertuzé Concha

Profesores Consejeros
José Luis Henríquez Sáez
Cecilia Del Carmen Baginsky Guerrero

Profesora Colaboradora
María Verónica Díaz Martínez

SANTIAGO - CHILE
2024

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA HERBICIDA DE EXTRACTOS DE
Rosmarinus officinalis y Eucalyptus globulus

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias, Área de Especialización: Producción de Cultivos.

JOAQUÍN ROTHMUND ÁLAMOS

Calificaciones

GUIA DE TESIS/AFE

Ricardo Alfredo Pertuzé Concha

6,5

Ingeniero Agrónomo, Ph.D.

PROFESORES/AS CONSEJEROS/AS

José Luis Henríquez Sáez

6,4

Ingeniero Agrónomo, Ph D.

Cecilia Del Carmen Baginsky Guerrero

6,0

Ingeniera Agrónoma, Dra.

Santiago, Chile
2024

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIA

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido a la realización de esta tesis. En primer lugar, agradezco a familia, por siempre apoyarme. En segundo lugar, a quienes han sido mis maestros a lo largo de este camino, no solamente a los que son docentes sino a todos aquellos que me han entregado herramientas que me servirán a lo largo de mi vida personal y profesional. A mi profesor guía por el apoyo incondicional a en este proceso, técnicos agrícolas con amplia experiencia en el campo que ampliaron mi conocimiento del aula enfocándolo en el terreno, técnicos en laboratorio con extremada paciencia para enseñarme y contenerme cuando las cosas no salen a la primera, administradores con un conocimiento universal de cómo solucionar cualquier tipo de problema en cualquier condición, otros profesores que me enseñaron el valor de alimentarme bien para poder enseñar y saber trabajar bajo presión obteniendo buenos resultados, y finalmente a mi mentora, ya que su conocimiento y dedicación han sido fundamentales para el desarrollo de este trabajo, porque no es lo mismo saber, que saber enseñar.

Agradezco también a todo el personal del Laboratorio de Manejo y Control de Malezas, por su colaboración. A mis amigos y futuros colegas que su apoyo incondicional que me ha motivado a seguir adelante en momentos difíciles, sin miedo a vivir.

Dedico esta tesis a mi familia, Paz Rothmund, Miguel Álamos, Isabel Izquierdo, Walter Rothmund, Ariela Rothmund y Fernanda Cortez, quienes siempre han sido mi ejemplo de esfuerzo y dedicación. Su amor incondicional y su fe en mí han sido la base de todos mis logros. A ustedes les debo todo lo que soy y espero seguir haciéndoles sentir orgullosos, son la luz que dan sentido a lo que narro.

ÍNDICE

Índice de contenido

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis.....	5
Objetivos	5
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Ubicación del estudio.....	6
Materiales.....	6
Material biológico.....	6
Materiales de laboratorio.....	6
Metodología	7
Obtención de aceites esenciales y elaboración de los bioherbicidas.....	7
Ensayos en laboratorio para determinar dosis a utilizar.....	8
Ensayos de eficacia herbicida macetas	9
Ensayos de fitotoxicidad en cultivo	11
Análisis estadístico.....	11
RESULTADOS.....	12
Elaboración de los bioherbicidas	12
Ensayos en laboratorio	12
Ensayos de eficacia herbicida en maceta	14
Ensayos de fitotoxicidad en cultivo	15
DISCUSIÓN	17
Obtención de aceites esenciales para la elaboración de los bioherbicidas.....	17
Ensayos en laboratorio, macetas y de fitotoxicidad.....	18
CONCLUSIONES	20
LITERATURA CITADA	21
APÉNDICES.....	26

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Tratamientos aplicados en el ensayo en laboratorio.....	9
Cuadro 2. Tratamientos utilizados en el ensayo de eficacia en preemergencia	10
Cuadro 3. Cantidad de materia fresca y eficiencia del proceso de destilación	12
Cuadro 4. Porcentaje inhibición de la germinación de semillas de <i>Datura stramonium</i>	13
Cuadro 5. Porcentaje inhibición de la germinación de semillas de <i>Lolium multiflorum</i>	13
Cuadro 6. Porcentaje de control post emergencia temprana de <i>Datura stramonium</i>	15
Cuadro 7. Porcentaje de control post emergencia temprana de <i>Lolium multiflorum</i>	15
Cuadro 8. Efecto del bioherbicida de <i>Rosmarinus officinalis</i> sobre el diámetro y el peso fresco de lechugas variedad Journey	16
Cuadro 9. Efecto del bioherbicida de <i>Eucalyptus globulus</i> sobre el diámetro y el peso fresco de lechugas variedad Journey.....	16

Índice de Figuras

Figura 1. Porcentaje de germinación de <i>Lolium multiflorum</i> y <i>Datura stramonium</i> respecto a la dosis de cada bioherbicida aplicado.....	14
Figura 2. Selección de lechugas variedad Journey representativas de la deformidad presentada en comparación con el control.	16

Índice de Apéndices

Apéndice I. Listado de ensayos de germinación realizados en laboratorio.....	26
Apéndice II. Listado de tratamientos realizados en los ensayos de germinación.....	26

RESUMEN

Las malezas representan un desafío en la agricultura por su interferencia en los cultivos. Se investigaron los efectos de dos aceites esenciales, de *Rosmarinus officinalis* (RO) y *Eucalyptus globulus* (EG), para controlar malezas sin comprometer la calidad de *Lactuca sativa* var. Journey, especialmente el diámetro de cabeza y peso limpio. Los aceites se extrajeron mediante destilación por arrastre de vapor y se formularon como bioherbicidas. Se evaluó su efecto sobre la germinación de *Datura stramonium* (DS) y *Lolium multiflorum* (LM) en laboratorio, utilizando siete tratamientos por bioherbicida. Se determinó que con una dosis de 157 mL ha⁻¹ se inhibe más del 80% de la germinación de DS y LM. Posteriormente, en macetas bajo condiciones de campo, se analizó el control pre y post emergente con tres dosis a partir de 157 mL ha⁻¹, aunque no se encontraron diferencias significativas, descartando el efecto fitotóxico en estas dosis. También se evaluó el efecto fitotóxico sobre la lechuga, observándose deformaciones en el tallo, sin afectar los parámetros de calidad. Los antecedentes recabados son muy incipientes para indicar, si los aceites pudieran tener un efecto como bioherbicidas pre emergentes. Se sugiere seguir investigando en esta línea en condiciones de campo.

Palabras clave: bioherbicidas, aceites esenciales, control de malezas, extractos vegetales

ABSTRACT

Weeds pose a significant challenge in agriculture due to their interference with crop growth. The effects of two essential oils, from *Rosmarinus officinalis* (RO) and *Eucalyptus globulus* (EG), were investigated for controlling weeds without compromising the quality of *Lactuca sativa* var. Journey, particularly regarding head diameter and clean weight. The oils were extracted via steam distillation and formulated as bioherbicides. Their effects on the germination of *Datura stramonium* (DS) and *Lolium multiflorum* (LM) were evaluated in the laboratory using seven treatments per bioherbicide. It was determined that at a dose of 157 mL ha⁻¹ inhibited over 80% of the germination of both DS and LM. Subsequently, in pots under field conditions, pre- and post-emergent control was assessed using three doses starting from 157 mL ha⁻¹, although no significant differences were found, ruling out phytotoxic effects at these doses. Additionally, phytotoxic effects on lettuce were evaluated, revealing stem deformities without affecting quality parameters. The collected data is preliminary and does not definitively indicate whether the oils could act as pre-emergent bioherbicides. Continued research in this area under field conditions is recommended.

Keywords: bioherbicides, essential oils, weed control, plant extracts.

INTRODUCCIÓN

Entre los principales factores biológicos que dificultan la producción agrícola, las malezas se consideran las más perjudiciales (Zimdahl, 2018). Según “Weed Science Society of America” (2016) una maleza corresponde a una “planta que causa pérdidas económicas o daño ecológico, crea problemas de salud para humanos o animales, o es indeseable donde crece”.

Varios autores señalan que estas pérdidas económicas son causadas principalmente por la disminución del rendimiento de los cultivos, el cual puede superar el 30% (Oerke, 2006; Gharde *et al.*, 2018; Soltani *et al.*, 2017). Según Jabran *et al.* (2015) este efecto está relacionado directamente con la interferencia que generan las malezas a los cultivos.

Se entiende por interferencia a la suma de la competencia y la alelopatía, dos fenómenos que son difíciles de separar en la práctica, por lo cual se utiliza para referirse a las interacciones entre plantas, sin precisar su causa (Duke *et al.*, 2001). La competencia se refiere a las habilidades relativas de diferentes plantas dentro de la comunidad para utilizar un recurso escaso (agua, nutrientes del suelo y radiación solar), lo que está determinado por la capacidad de extracción y la eficiencia en la utilización de dichos recursos (McDonald y Gill, 2009). Por otra parte, la alelopatía está definida como la influencia directa de un compuesto químico (aleloquímico) liberado por una planta sobre el crecimiento y desarrollo de otra (Kim y Shin, 2004). En general, los aleloquímicos se liberan al medio por volatilización, lixiviación, descomposición y excreción (Blum, 2011).

Además, las malezas pueden generar algunos daños indirectos a los cultivos, pudiendo servir como hospederas de plagas y enfermedades (Capinera, 2005), dificultar el proceso de cosecha, aumentando los costos de esta labor (Labrada y Parker, 1996), entre otros daños indirectos.

El uso de herbicidas ha reemplazado en gran medida a los métodos mecánicos de control de malezas en países donde se practica la agricultura intensiva y altamente mecanizada. Simultáneamente, existe una búsqueda activa de alternativas naturales mediante la utilización de compuestos sintetizados directamente por plantas (Giardini *et al.*, 2018).

Al estudiar algunas sustancias de origen vegetal, ha sido posible identificar que las plantas producen una gama de aleloquímicos que, además de desempeñar funciones fisiológicas, también permiten la interacción entre los individuos, lo que provoca impactos en el ambiente adyacente (Ferreira y Aquila, 2000). Por ejemplo, se han detectado aleloquímicos que pueden afectar la captación de nutrientes y el crecimiento de raíces de otras plantas, entre otros efectos (Cheng y Cheng, 2015). Estos efectos pueden ser utilizados para reducir la presencia de malezas en rotaciones de cultivos o utilizando acolchados vegetales (*mulch*), aprovechando los aleloquímicos producidos (Farooq *et al.*, 2013).

Se ha experimentado con sustancias de origen vegetal, para el control de malezas (Batish *et al.*, 2008), los que son denominados bioherbicidas. Herrera (2010) trabajó con residuos de la

industria olivícola y detectó que algunos extractos de estos residuos disminuían el porcentaje de germinación de especies anuales, como *Datura* sp., y reducían la brotación de especies perennes como *Sorghum halepense*, *Bidens aurea*, *Cynodon dactylon* y, en mayor medida, a *Convolvulus arvensis*.

Los bioherbicidas son elaborados a partir de plantas, al extraer algunas sustancias de su metabolismo (Giardini *et al.* 2018). Un ejemplo de productos naturales con potencial bioherbicida son los aceites esenciales, los que, según lo definido por la Organización Internacional de Normalización, son “productos obtenidos a partir de materia prima vegetal, ya sea por destilación con agua o vapor” (ISO, 1997). El término “esencial” de estos aceites hace referencia a la particularidad de una planta, más que a un componente que cumpla una función biológica vital. Estos extractos son comúnmente utilizados en la industria farmacéutica, alimenticia y mayoritariamente en perfumería (Mamadaliyeva *et al.*, 2020). Actualmente, los aceites esenciales son potenciales productos alternativos para la elaboración de biopesticidas o bioherbicidas (Gómez, 2010).

Romagni *et al.* (2000) y Singh *et al.* (2002) señalan que, los herbicidas basados en aceites esenciales poseen muchas ventajas, debido a que presentan una gran variedad de mecanismos de acción, integrando diversos componentes que actúan de forma sinérgica y no aditiva, lo que hace más complejo el desarrollo de resistencias (Cimanga *et al.*, 2002). Una ventaja indirecta de estos extractos es que, debido a sus compuestos volátiles, pueden mejorar la polinización, atrayendo insectos polinizadores y/o repeliendo a otros que pueden ser perjudiciales para el desarrollo del cultivo (Blazquez, 2014).

Es factible el uso de aceites esenciales para controlar malezas cuando la elaboración, aplicación y costos son consecuentes con el plan de manejo del cultivo (Kohli *et al.*, 1998). Sin embargo, Batish *et al.* (2006) señalan que aún existen muchas limitaciones frente a competir con los herbicidas sintéticos, mencionan factores tales como la volatilidad del aceite, la lipofilia, la dificultad en la absorción de la planta, la efectividad en condiciones de campo, toxicidad para cultivos y la inconsistencia en la composición del aceite. Con relación a la variabilidad del aceite, indican que podría variar con la estación de colecta, el clima, las variedades de las especies a utilizar e incluso con la edad de la planta. Sin embargo, podrían ser una opción viable para reemplazar los herbicidas sintéticos bajo prácticas de agricultura orgánica (Batish *et al.*, 2008).

Ramezani *et al.* (2008), Piraste-Anoshe *et al.* (2011) y Atak *et al.* (2016) han investigado el efecto de aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* (romero) y concuerdan en que este producto posee un efecto fitotóxico en malezas inhibiendo su germinación. Se han publicado estudios sobre la composición química de los aceites esenciales de romero en diferentes regiones del mundo, por ejemplo, el α -pineno es uno de sus componentes mayoritarios cuando la planta se encuentra en estado de fructificación (Alipour *et al.*, 2019).

Se ha demostrado que el aceite esencial producido a partir del follaje de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) retarda el crecimiento de la vegetación cercana (May y Ash, 1990, Liu *et al.*, 2008). También se ha identificado que el uso de este aceite tiene un mayor efecto en semillas pequeñas y que uno de sus compuestos, el citronelal, es más tóxico para malezas dicotiledóneas que monocotiledóneas (Singh *et al.*, 2002, Singh *et al.*, 2006).

Hipótesis

Los compuestos naturales de *Rosmarinus officinalis* y/o *Eucalyptus globulus* son capaces de controlar *Datura stramonium* y/o *Lolium multiflorum*, y no afectan el crecimiento y desarrollo de *Lactuca sativa*.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la eficiencia y la selectividad herbicida de extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus*.

Objetivos específicos

Obtener al menos un producto en base a aceites esenciales que controle malezas en bajas concentraciones.

Determinar la eficiencia herbicida de extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus* en el control de la germinación de *Datura stramonium* y *Lolium multiflorum*, en condiciones de laboratorio y de campo.

Determinar la selectividad herbicida de extractos de *Eucalyptus globulus* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Lactuca sativa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

El estudio se realizó en las dependencias de la Estación Experimental Antumapu de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, ubicado en la Región Metropolitana, Chile (coordenadas 33°34'14''S y 70°38'01''). Los trabajos de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Manejo y Control de Malezas del Departamento de Producción Agrícola de la misma universidad.

Materiales

Material biológico

Para la elaboración de los aceites esenciales se utilizaron hojas y tallos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y hojsa de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), extraídas en primavera de 2019 desde la estación experimental Antumapu, ubicada en La Pintana, y la estación experimental Germán Greve Silva, ubicada en Rinconada de Maipú, ambas en Santiago. Estas fueron procesadas inmediatamente luego de ser extraídas, para evitar la pérdida de compuestos por volatilización.

Se utilizaron semillas de las malezas *Datura stramonium* (chamico) y *Lolium multiflorum* (ballica anual), las que fueron recolectadas en la Estación Experimental Antumapu de la Universidad de Chile durante el verano de 2019. Luego, se almacenaron en bolsas de papel etiquetadas hasta ser utilizadas. Además, se utilizaron semillas de la especie cultivada: *Lactuca sativa* (lechuga) para generar los almácigos que fueron utilizados en las pruebas de fitotoxicidad. Estas últimas fueron facilitadas por el Banco de Semillas del Laboratorio de Mejoramiento Hortícola de la Universidad de Chile.

Materiales de laboratorio

Para la extracción de aceite esencial, con la cual se elaboraron ambos bioherbicidas, se utilizó un equipo de destilación por arrastre de vapor de acero inoxidable, modelo "AE-100" de 100 L, fabricado por Agri aromas Molina, además de materiales de laboratorio como embudos de decantación, botellas de vidrio y pipetas para la separación y almacenaje de los aceites esenciales. Para la conservación de las semillas, se utilizó una cámara de frío a 4°C y humedad relativa cercana al 10% (ISTA, 2017).

Para los ensayos que fueron realizados en laboratorio, se usaron placas Petri de vidrio de aproximadamente 9 cm de diámetro, papel filtro circular N° 292 Equivalente W#1, marca Munktell, y cinta Parafilm para sellar las placas y reducir la pérdida de humedad.

Para la realización de los ensayos en condiciones de campo se utilizó un pulverizador de espalda para herbicidas de 15 litros marca “Solo 325”, con boquillas de abanico plano Teejet 8002vk a una presión de 3 bares. Las dos especies de malezas (chamico y ballica), se establecieron en macetas de 1 L al aire libre, al igual que las almacigueras para la germinación de la especie cultivada (lechuga).

Metodología

La realización del estudio se dividió en varias etapas. La primera consistió en la elaboración de los bioherbicidas a aplicar, comprendida desde la cosecha del material vegetal hasta la mezcla del aceite obtenido con un emulgente. En una segunda etapa, se desarrollaron los ensayos, por una parte, ensayos en laboratorio y por otra, ensayos en condiciones de campo, para determinar tanto los efectos herbicidas de los aceites sobre las malezas como la selectividad sobre lechuga.

Obtención de aceites esenciales y elaboración de los bioherbicidas

Para el proceso de extracción, se siguió la metodología descrita por Patiño *et al.* (2014). Se utilizaron solo partes vegetativas aéreas frescas de las especies mencionadas, utilizándose solo hojas para el caso de *E. globulus*, mientras que en *R. officinalis* hojas y tallos. Para cada especie de planta aromática, *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus*, se trabajó en forma independiente.

Los compuestos orgánicos fueron extraídos mediante destilación en el Laboratorio de Manejo y Control de Malezas de la Facultad. Este proceso se llevó a cabo específicamente por el método de destilación por arrastre de vapor, el cual fue realizado en un extractor de aceites esenciales de acero inoxidable, modelo “AE-100” con una capacidad de 100 litros, de la marca “Agri aromas Molina”.

La destilación por arrastre de vapor está basada en que la mayor fracción de las partes aromáticas, que se encuentran en un material vegetal, pueden ser arrastradas por el vapor de agua. Es una destilación que mezcla dos líquidos inmiscibles. Consiste, en la vaporización de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua a temperaturas inferiores a las de ebullición. Los vapores fluyen hacia un condensador donde se reduce la temperatura de esta mezcla, gracias a un flujo constante de agua fría, que actúa como refrigerante, hasta regresar a la fase líquida y decantar en un embudo de decantación.

Para esta investigación se utilizó un embudo de decantación de 1 L, lo que permitió obtener dos productos inmiscibles los cuales fueron: aceite esencial e hidrolato. El hidrolato es un subproducto de la extracción de aceites esenciales de plantas, el cual es una mezcla altamente aromática, compuesta por pequeñas trazas de aceite que son solubles en agua (Lei *et al.*, 2016). Gracias a la diferencia de densidades entre el aceite y el hidrolato, donde el aceite tiene una menor densidad, se genera una separación de fases en la que el aceite se encuentra

en la parte superior en el embudo de decantación, facilitando la obtención de un aceite al 100% de concentración (Gómez, 2010; Conde-Hernández *et al.*, 2017).

Para determinar el rendimiento del aceite esencial se utilizó la ecuación indicada por Conde-Hernandez *et al.*, (2017):

$$\text{Porcentaje de extracción de aceite (\%)} = \frac{\text{Aceite esencial (mL)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Una vez obtenidos los dos aceites esenciales, ambos fueron enviados a un laboratorio comercial para identificar el compuesto emulgente adecuado, procesar los aceites y obtener los dos bioherbicidas formulados en una proporción 5% v/v que fueron utilizados en los ensayos en condiciones de laboratorio y campo. De esta forma, para cada aceite por separado, se obtuvo un producto con capacidad de diluirse en agua lo que permitió su aplicación en los ensayos posteriores (“bioherbicida”).

Ensayos en laboratorio para determinar dosis a utilizar

Para cada especie de maleza (chamico y ballica) se colocaron 25 semillas, previamente desinfectadas con “captan”, en forma equidistante en una placa de Petri de vidrio, sobre un papel filtro circular N° 292 W#1. Se aplicaron 5 mL de las diferentes concentraciones de los bioherbicidas sobre las placas con las semillas predisuestas, correspondientes a los seis tratamientos, además de un testigo con agua, para cada uno de los ensayos consecutivos para lograr desarrollar una curva de control pre emergente de malezas (apéndices I y II). Estas placas fueron dispuestas, en un diseño completamente al azar, dentro de una cámara de germinación, a una temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ y con un fotoperiodo de 16:8 horas luz:oscuridad (Alipour *et al.*, 2019). Se establecieron cinco repeticiones para cada tratamiento donde la unidad experimental fue una placa Petri con 25 semillas para cada una de las malezas y bioherbicidas por separado.

A los 7, 14 y 21 días después de la aplicación de los diferentes tratamientos, se evaluó el porcentaje de germinación, mediante el conteo de semillas de malezas germinadas. Todas las semillas que mostraron la emergencia de la radícula de forma mínima (≥ 1 mm) se registraron como germinadas (Hazratia *et al.*, 2017). Para ello, se adaptó la siguiente fórmula indicada por Hartman *et al.* (1990):

$$\text{PCg(\%)} = \left(1 - \frac{\text{SG}}{\text{ST}} \right) \times 100$$

Donde PCg corresponde al porcentaje de control sobre la germinación, SG a las semillas germinadas y ST al total de semillas evaluadas.

Además, se realizó un conteo al día 42 después de la aplicación, para descartar un efecto de retraso en la germinación, en lugar de completa inhibición que pudieron haber generado estos bioherbicidas sobre las semillas de *Datura stramonium* y *Lolium multiflorum*.

En un principio, se comenzó con la búsqueda de una concentración que lograra inhibir la germinación de semillas de chamico y ballica en un 80%, con relación al testigo. La búsqueda se inició con un ensayo de distintas dosis que partían desde una concentración del bioherbicida puro, las que fueron reduciéndose en 20%, hasta llegar al 0%. Debido a que no se presentó germinación en ninguno de los tratamientos, se procedió a realizar ensayos reduciendo la dosis de acuerdo con los apéndices I y II. Debido a que los resultados preliminares para ambos bioherbicidas fueron similares en ambas especies de malezas, se determinó repetir el Ensayo 5 (E05) con las dosis presentes en el Cuadro 1. El E05 representó de mejor forma la curva de control para determinar la dosis que lograra disminuir la germinación en un 80%.

Cuadro 1. Tratamientos y dosis aplicadas en el ensayo en laboratorio de bioherbicidas de romero y eucalipto.

Tratamientos	Dosis mL ha ⁻¹
T0	0,00
T1	78,60
T2	117,89
T3	157,19
T4	196,49
T5	235,79
T6	275,08

Ensayos de eficacia herbicida en macetas

Se establecieron ensayos en macetas bajo condiciones de campo para evaluar la eficacia herbicida, mediante el efecto fitotóxico de las dosis de ambos bioherbicidas, de forma independiente, sobre las semillas de las malezas a estudiadas.

Para cada especie de maleza en estudio se sembraron las semillas en forma independiente en macetas de 1 L, con una mezcla, en partes iguales, de turba, perlita y vermiculita. Se dispusieron 50 semillas a una profundidad aproximada de 3 veces el tamaño de la semilla. Las macetas fueron regadas mediante un sistema de riego por goteo del tipo estaca con un caudal de 0,5 L h⁻¹, con un tiempo de riego de 5 minutos al día. Los bioherbicidas se aplicaron en preemergencia, una vez sembradas las malezas, utilizando como tratamientos la menor dosis que otorgó un 80% de inhibición de la germinación, dosis amplificadas 1,5 y 2 veces la primera dosis (Cuadro 2).

Cuadro 2. Tratamientos y dosis utilizadas en el ensayo de eficacia en preemergencia de los bioherbicida en macetas.

Tratamientos	Dosis mL ha ⁻¹
T0	0,00
T1	157,19
T2	235,79
T3	314,38

Las macetas establecieron a inicios de primavera, se mantuvieron durante 42 días al aire libre, con una temperatura y horas luz determinados por el ambiente. A los 7, 14, 21 y 42 días luego de la aplicación, se evaluó el porcentaje de emergencia (PE), mediante el conteo de plántulas de maleza emergidas respecto del total, con la siguiente fórmula:

$$PCe(\%) = \left(1 - \frac{SE}{ST}\right) \times 100$$

Donde PCe corresponde al porcentaje control sobre la emergencia, SE a las plántulas emergidas y ST a las semillas totales.

Dado la nula respuesta como herbicida pre emergente, ya que se produjo una emergencia normal de ambas especies, se estableció nuevamente el ensayo, para poder evaluar el efecto herbicida en post emergencia. Para esto se sembraron las semillas en forma independiente en macetas de 1 L, de igual forma como se estableció la evaluación pre emergente. Se dispusieron 50 semillas en cada maceta, para luego realizar un raleo de plantas hasta tener 30 plantas por maceta. Posteriormente se esperó a que cada una de las especies lograra crecer y desarrollarse hasta el momento donde la aplicación de un herbicida obtiene un mejor resultado. El cual se determinó cuando las plantas de ballica presentaron 2 a 3 hojas y las plantas de chamico llegaron a un estado de 2 hojas verdaderas. En ese momento se aplicaron los bioherbicidas, utilizando como tratamientos las mismas tres dosis utilizadas anteriormente (Cuadro 2). Se utilizó la siguiente fórmula para evaluar las plantas afectadas:

$$PCp(\%) = \frac{PD}{PT} \times 100$$

Donde PCp corresponde al porcentaje control post emergencia, PD a las plantas con daño y PT a las plantas totales previo a la aplicación.

Para cada bioherbicida y maleza utilizada, se realizó un diseño experimental independiente, que correspondió a bloques completos al azar de cuatro tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. Cada bloque se estableció respecto a cada hilera de riego de las macetas. Donde cada repetición fue una maceta de 1 L con 30 plantas de cada especie. En cuanto a la unidad experimental esta correspondió a una maceta con 30 plantas.

Ensayos de fitotoxicidad en cultivo

Este ensayo, se realizó en forma independiente para cada bioherbicida. Cada ensayo contempló tres tratamientos con cuatro repeticiones cada uno, estableciéndose bajo un diseño completamente aleatorizado. La unidad experimental consistió en una hilera con 16 plantas y la unidad muestral, fue de ocho plantas ubicadas al centro de la unidad bajo competencia perfecta.

Bajo condiciones de campo, se establecieron plántulas de *Lactuca sativa* var. Journey en dos hileras espaciadas a 70 cm entre ellas y a una distancia sobre hilera de 25 cm, regadas mediante un sistema de riego por cintas.

Los almácigos fueron trasplantados el día 4 de noviembre. Posterior a esto, se esperó una semana para que las plantas se aclimataran post trasplante, tomando en consideración que las plantas presentaran hojas nuevas y sus hojas ya expandidas estuvieran turgentes.

Para cada bioherbicida se aplicaron dos dosis: 235,8 mL ha⁻¹ y 314,4 mL ha⁻¹ de producto más un testigo sin aplicación. Los tratamientos se aplicaron mediante una máquina de aplicación de espalda manual de 15 litros aplicando el producto en un volumen de 158,4 L ha⁻¹ de mezcla, directamente sobre el follaje de las lechugas.

Al día 50 se cosecharon las plantas de lechuga para evaluar el efecto fitotóxico mediante la medición de peso fresco sin raíz y el diámetro ecuatorial, además de una evaluación visual del estado en que se encontraban una vez cosechadas (Oztekin y Tuzel, 2020).

Análisis estadístico

Para los primeros dos ensayos se analizaron los datos mediante un modelo lineal generalizado de respuesta binomial y función de enlace Logit. En el caso del tercer ensayo se analizaron los datos solo con modelos generalizados de respuesta binomial.

Para verificar si existían diferencias se utilizó la prueba de Wald. Al encontrar diferencias significativas, las medias fueron separadas con la prueba de comparaciones múltiples de Fisher, utilizando un nivel de significancia del 5%. El análisis estadístico se realizó con el software estadístico InfoStat, versión estudiantil.

RESULTADOS

Elaboración de los bioherbicidas

La elaboración de bioherbicidas de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) comenzó en septiembre de 2019 y finalizó en febrero de 2020. La cantidad de material vegetal utilizado en el equipo de destilación, para la obtención de 1 litro de aceite esencial y el porcentaje de extracción de cada aceite esencial se encuentran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Cantidad de materia fresca y eficiencia del proceso de destilación de romero y eucalipto para la obtención de 1 litro de aceite esencial.

Especie	Matéria fresca kg	Eficiencia de extracción %
Romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	211,4	0,473
Eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i>)	127,5	0,784

El porcentaje de extracción de aceite de *E. globulus* fue 65,4% superior al de *R. officinalis*, por lo cual el material fresco utilizado para la obtención de 1 L de aceite esencial tuvo que adecuarse, siendo el total de material fresco de *R. officinalis* un 55% superior que el de *E. globulus*.

Ensayos en laboratorio

Se evaluó separadamente la capacidad de cada bioherbicida (romero y eucalipto), como herbicida de preemergencia sobre semillas de *Lolium multiflorum* y *Datura stramonium* en condiciones de laboratorio. Se contabilizó el porcentaje de germinación de las semillas, luego de 14 días para *L. multiflorum* y 21 días para *D. stramonium*, desde la aplicación en placas Petri, esto debido a que son los días de conteo oficial dictados por la norma ISTA (2017). En el caso del día 42 no se presentaron diferencias con respecto de los días de medición previos. Estas placas fueron aplicadas con los 7 tratamientos presentados en el Cuadro 1, para cada bioherbicida. Se consideraron germinadas todas las semillas que mostraron emergencia de la radícula ≥ 1 mm. Con esto, se estimó el porcentaje de control o inhibición de la germinación en forma independiente para cada bioherbicida, para cada dosis utilizada sobre cada especie de maleza (Cuadro 4 y 5).

Las aplicaciones de aceite tanto de *R. officinalis* como de *E. globulus* lograron un porcentaje de control (inhibición de germinación de semillas) igual o superior a 80%, respecto al testigo, en *D. stramonium* con dosis superiores a 157 mL ha⁻¹ (Cuadro 4).

En el caso de *L. multiflorum*, tanto para *R. officinalis* como para *E. globulus* a partir de los tratamientos con una dosis de 118 mL ha⁻¹ se presentaron porcentajes superiores o iguales al 80% de control respecto al testigo (Cuadro 5).

Cuadro 4. Porcentaje de control o inhibición de la germinación de semillas de *Datura stramonium*, para distintas dosis de bioherbicidas en base a aceite esencial de eucalipto y romero, 21 días después de la aplicación.

Dosis mL ha ⁻¹	Control <i>Eucalyptus globulus</i> %	Control <i>Rosmarinus officinalis</i> %
79	66,67 b	50,77 d
118	75,00 ab	70,77 cd
157	81,67 ab	83,08 abc
197	70,00 b	76,92 bc
236	90,00 a	90,77 a
275	86,67 ab	86,15 ab

Medias con letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$; prueba de comparaciones múltiples de Fisher).

Cuadro 5. Porcentaje de control o inhibición de la germinación de semillas de *Lolium multiflorum*, para distintas dosis de bioherbicidas en base a aceite esencial de eucalipto y romero, 14 días después de la aplicación.

Dosis mL ha ⁻¹	Control <i>Eucalyptus globulus</i> %	Control <i>Rosmarinus officinalis</i> %
79	50,96 d	69,61 c
118	80,77 c	81,37 b
157	83,65 c	87,25 b
197	91,35 bc	95,10 a
236	99,04 a	96,08 a
275	98,08 ab	98,04 a

Medias con letras diferentes en sentido vertical indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$; prueba de comparaciones múltiples de Fisher).

A partir del análisis del efecto bioherbicida de romero y de eucalipto, en forma independiente, se determinó que existen diferencias significativas entre distintas dosis y sobre ambas especies evaluadas (*L. multiflorum* y *D. stramonium*) (Cuadros 4 y 5) y que, para el caso de ballica, a partir de las dosis de 236 mL ha⁻¹, el porcentaje de control, o inhibición de la germinación, no cambia, en tanto que para chamico este efecto no se logra apreciar con claridad.

En la Figura 1, se grafican los resultados de control pre emergente en laboratorio del día 14 después de aplicación para *L. multiflorum* (Figura 1a) y 21 días después de aplicación para *D. stramonium* (Figura 1b). En esta se presenta el porcentaje de germinación de cada especie de maleza, aplicada con cada bioherbicida, con relación al testigo y una línea roja horizontal indicando el punto donde se inhibe en un 80% la germinación, mínimo esperado para ser considerado herbicida. Como se puede apreciar, para *L. multiflorum* este porcentaje de inhibición se logra cercano a los 118 mL ha⁻¹, en tanto para *D. stramonium* este punto se logra cercano a una dosis de 157 mL ha⁻¹.

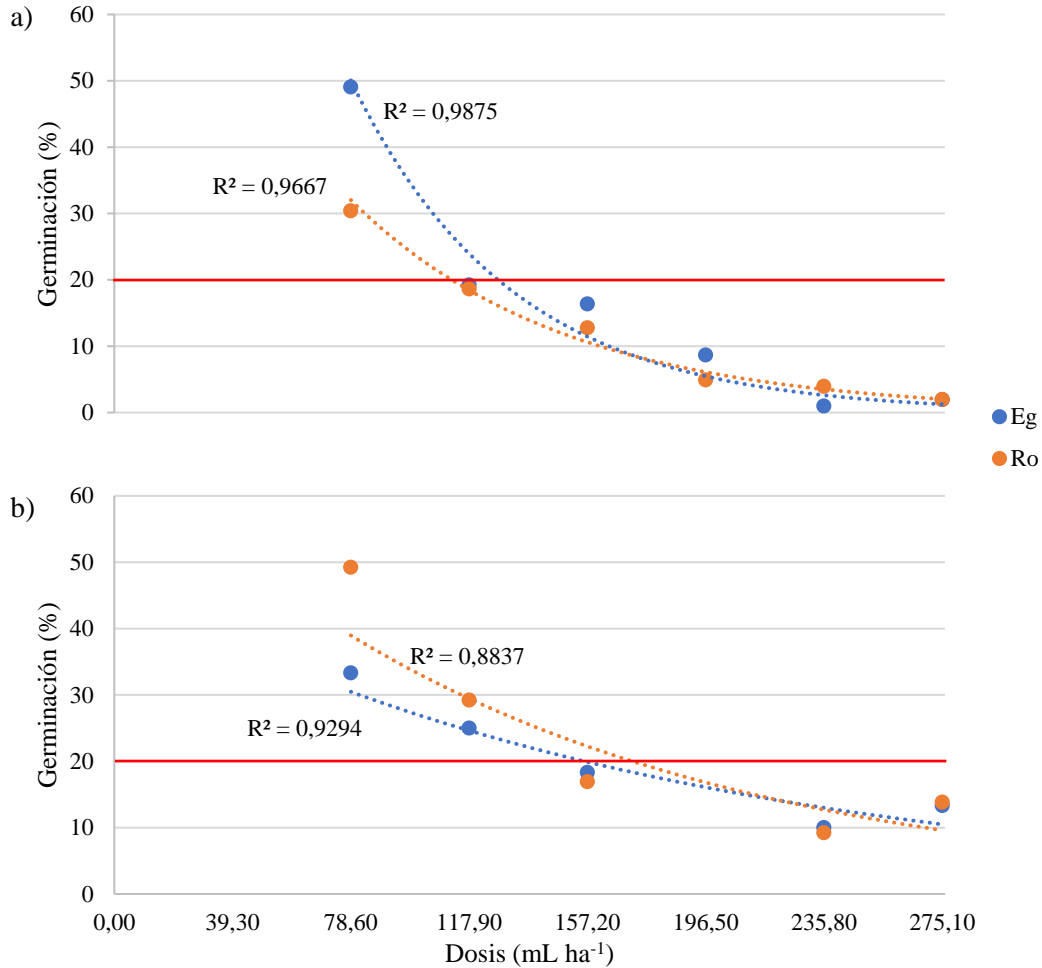


Figura 1. Porcentaje de germinación de a) *Lolium multiflorum* y b) *Datura stramonium*, respecto a la dosis, en mL ha⁻¹, de cada bioherbicida aplicado, *Rosmarinus officinalis* (Ro) y *Eucalyptus globulus* (Eg), evaluados los días 14 y 21 después de siembra, respectivamente, para cada especie de maleza.

Ensayos de eficacia herbicida en maceta

Se establecieron ensayos en maceta, bajo condiciones de campo, para determinar la eficacia herbicida en preemergencia, donde se evaluó el porcentaje de emergencia de ambas especies malezas estudiadas aplicadas con las distintas dosis del bioherbicida, de forma independiente,

Los ensayos se realizaron utilizando como dosis inicial 157 mL ha⁻¹ y debido a las adversidades que se pudiesen presentar en las macetas, a diferencia de las condiciones de laboratorio, se consideró utilizar además dos dosis superiores las cuales corresponden a 1,5 y 2 veces la dosis inicial (Cuadro 2).

Los resultados mostraron que el ensayo pre emergente presentó una germinación igual entre tratamientos y el testigo. Por este motivo se realizó un ensayo post emergente en el cual se efectuaron aplicaciones sobre 15 y 30 plantas por maceta para *D. stramonium* y *L. multiflorum*, respectivamente. Los resultados de este ensayo post emergente se presentan en los Cuadros 6 y 7, tanto para *D. stramonium* como para *L. multiflorum*, respectivamente.

Cuadro 6. Porcentaje de control post emergencia temprana de *Datura stramonium*, para bioherbicidas en base a aceite esencial de eucalipto y romero.

Dosis mL ha ⁻¹	<i>Eucalyptus globulus</i> ^{NS} %	<i>Rosmarinus officinalis</i> ^{NS} %
157	0,85 ± 0,05	0,88 ± 0,04
236	0,88 ± 0,04	0,85 ± 0,05
314	0,85 ± 0,05	0,88 ± 0,04

^{NS}/No se presentan diferencias significativas entre las dosis para cada especie ($p \leq 0,05$; prueba de comparaciones múltiples de Fisher).

Cuadro 7. Porcentaje de control post emergencia temprana de *Lolium multiflorum*, para productos en base a aceite esencial de eucalipto y romero.

Dosis mL ha ⁻¹	<i>Eucalyptus globulus</i> ^{NS} %	<i>Rosmarinus officinalis</i> ^{NS} %
157	1,00 ± 0,01	0,99 ± 0,01
236	0,98 ± 0,01	0,99 ± 0,01
314	0,99 ± 0,01	1,00 ± 0,01

^{NS}/No se presentan diferencias significativas entre las dosis para cada especie ($p \leq 0,05$; prueba de comparaciones múltiples de Fisher).

Pese a la decisión de evaluar estos bioherbicidas de forma post emergente temprana, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos en base a aceites esenciales sobre ambas especies de malezas, aplicadas tanto en pre como en post emergencia lo cual concluye una nula actividad fitotóxica de ambos bioherbicidas en las tres dosis aplicadas.

Ensayos de fitotoxicidad en cultivo

Se establecieron plantas de *Lactuca sativa* variedad Journey en campo, para evaluar el efecto de las dos dosis más altas del ensayo de campo y determinar con ellas la fitotoxicidad de ambos bioherbicidas de forma independiente. Se midió el diámetro ecuatorial y el peso fresco de ocho lechugas centrales de cada repetición (Cuadros 8 y 9).

En el caso de ambos bioherbicidas, de *R. officinalis* y de *E. globulus*, no se presentaron diferencias significativas de las medias entre los tratamientos, para ninguna de las dos variables medidas, diámetro ecuatorial y peso fresco limpio de lechugas (Cuadros 8 y 9).

Cuadro 8. Efecto del bioherbicida de *Rosmarinus officinalis* sobre el diámetro y el peso fresco de lechugas variedad Journey.

Dosis mL ha ⁻¹	Diámetro ecuatorial ^{NS} cm	Peso fresco ^{NS} g
0	14,26 ± 2,73	162,39 ± 63,08
236	12,91 ± 1,80	132,18 ± 39,24
314	14,55 ± 2,32	134,14 ± 53,02

^{NS}/No se presentan diferencias significativas entre las dosis para cada especie ($p \leq 0,05$; prueba de comparaciones múltiples de Fisher).

Cuadro 9. Efecto del bioherbicida de *Eucalyptus globulus* sobre el diámetro y el peso fresco de lechugas variedad Journey.

Dosis mL ha ⁻¹	Diámetro ecuatorial ^{NS} cm	Peso fresco ^{NS} g
0	14,26 ± 2,73	162,39 ± 63,08
236	13,43 ± 1,73	121,48 ± 30,60
314	14,43 ± 2,46	132,29 ± 46,95

^{NS}/No se presentan diferencias significativas entre las dosis para cada especie ($p \leq 0,05$; prueba de comparaciones múltiples de Fisher).

A pesar de no existir diferencias estadísticas en los parámetros evaluados, se identificó una clara tendencia al desarrollo de deformidad en las cabezas de las lechugas de los tratamientos aplicados con ambos productos con respecto al testigo (Figura 2). Esto determinó que la cosecha de las lechugas fuera realizada al día 50 ya que frente a la deformidad presente era inviable seguir adelante con el cultivo.

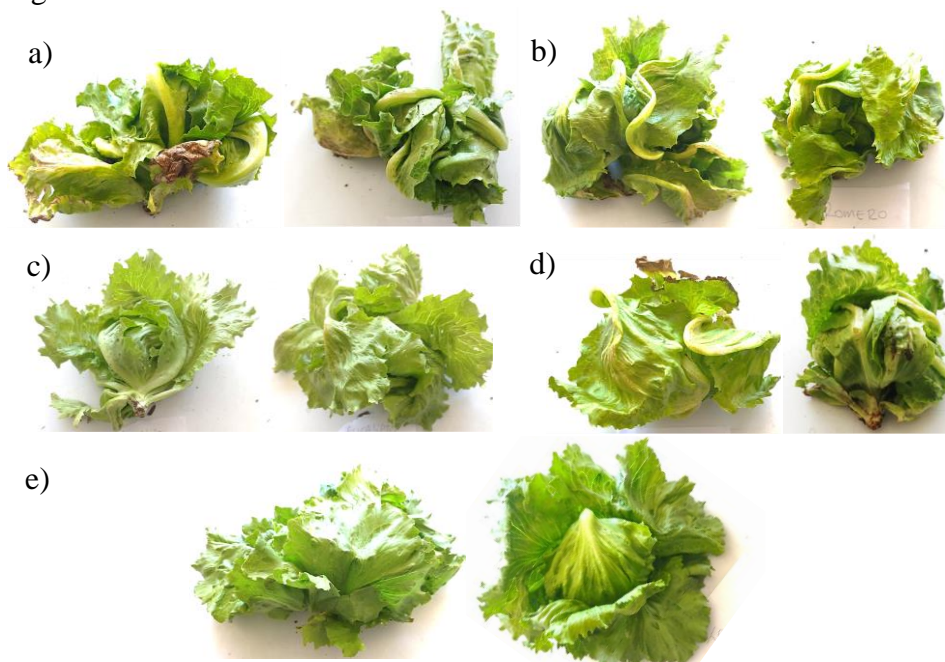


Figura 2. Selección de lechugas variedad Journey representativas de la deformidad presentada en comparación con el testigo. a) Aplicación de 236 mL ha⁻¹ de *E. globulus*. b) Aplicación de 236 mL ha⁻¹ de *R. officinalis*. c) Aplicación de 314 mL ha⁻¹ de *E. globulus*. d) Aplicación de 314 mL ha⁻¹ de *R. officinalis*. e) Testigo sin aplicación de productos en base a aceites esenciales.

DISCUSIÓN

Obtención de aceites esenciales para la elaboración de los bioherbicidas

La obtención de aceites de *E. globulus* y *R officinalis* se realizó utilizando el método de destilación por arrastre de vapor manipulando exclusivamente materia fresca sin procesar y un equipo industrial. El porcentaje de extracción de los aceites esenciales puede variar según, especie/cultivar (Giuffré y Nobile, 2020), órgano utilizado, contenido de humedad, tamaño de la muestra y procesado, método de extracción (Chatterjee *et al.*, 2015), equipo de destilación. Por lo tanto, existen diferencias en cuanto a porcentaje de extracción entre diferentes autores.

En el caso de *R officinalis*, Taquire (2022), trabajó con hojas frescas con un porcentaje de humedad de 38,5%, en un equipo industrial de destilación y obtuvo un porcentaje de extracción de 0,57%. Sin embargo, Boutekedjiret *et al.* (2003) quienes también utilizaron hojas frescas, muestran resultados de 1,2%, pero, a diferencia del caso anterior, utilizaron un equipo de destilación de laboratorio. Asimismo, Conde-Hernández *et al.* (2017) utilizando un destilador de laboratorio y muestras de 50 g de hojas secas, lograron porcentajes de extracción de 2,35%, lo cual es significativamente mayor que los otros estudios, principalmente debido a que al utilizar un equipo de destilación de laboratorio y muestras secas se maximiza el porcentaje de extracción de aceites. Vásquez *et al.* (2001) confirman que, mediante un secado en cobertizo sin superar los 40°C, para disminuir la pérdida de compuestos volátiles, se puede obtener mejores rendimientos de aceite en el proceso de extracción. Las condiciones presentes en esta investigación se asemejan más a lo realizado por Taquire (2022), y se puede concluir que el resultado obtenido es similar tanto para la metodología como para los materiales utilizados.

En tanto en el caso de *E. globulus*, Ramírez y Pillaca (2014) obtuvieron un porcentaje de extracción de aceite de 0,73% utilizando el método de destilación por arrastre de vapor con hojas frescas, lo cual concuerda con lo obtenido en esta investigación. Por otra parte, Pérez y Castaño (2018), utilizando un destilador de laboratorio y trozando finamente el material vegetal consiguieron una extracción del 1,21%. Debido a que en esta investigación no se fraccionó el material vegetal se obtuvieron resultados similares a Ramírez y Pillaca (2014). Según Vásquez *et al.* (2001), para aumentar la eficiencia de extracción de aceites esenciales, es recomendable aumentar la superficie de contacto del material vegetal para extraer mayor cantidad de compuestos volátiles. Acciones que pueden ser consideradas a la hora de realizar un ensayo de características similares para facilitar la obtención de volúmenes de aceite para su posterior aplicación, reduciendo el tiempo del ensayo.

Además, es importante considerar el costo asociado a la obtención de estos aceites ya que, por ejemplo, en el caso de romero, se requirió mayor cantidad de materia prima para alcanzar un volumen deseado, lo que se traduce en mayores costos de producción para este bioherbicida ligado principalmente a su eficiencia de extracción (Lipa, 2014; Price y Price 2012).

Ensayos en laboratorio, macetas y de fitotoxicidad

Se realizaron ensayos secuenciales con dosis decrecientes de los dos bioherbicidas en condiciones de laboratorio, de modo de encontrar la posible dosis de utilización comercial, que cumpliera con el requisito de controlar el 80% de las malezas en estudio (apéndices I y II).

A partir del hallazgo de la dosis (275 mL ha^{-1}), se realizaron los ensayos correspondientes, de inhibición de germinación de semillas en condiciones de laboratorio, como posible herbicida suelo-activo y como herbicida post emergente. Para cumplir lo anterior, se aplicaron cada uno de los bioherbicidas (*E. globulus* y *R. officinalis*) de forma independiente en condiciones de laboratorio sobre semillas de malezas, en campo sobre plantas de malezas de 2 a 3 hojas y finalmente sobre lechugas variedad Journey, en estado de 5 a 7 hojas, para evaluar la posible fitotoxicidad.

En condiciones de laboratorio estos lograron inhibir la germinación de ambas especies de malezas (*D. stramonium* y *L. multiflorum*) hasta el punto de control del 80% desde una dosis mínima de 157 mL ha^{-1} , sin embargo, en condiciones de campo al asperjarlo como herbicida de preemergencia, no logró un control satisfactorio, por lo cual se evaluó, su posible efecto post emergente, no detectándose control de las malezas, lo cual podría deberse principalmente a la volatilidad de los productos en base a aceites esenciales. Al respecto, Gupta *et al.* (2023) mencionan que dentro de los principales desafíos de la utilización de aceites esenciales para formular nuevos productos bioherbicidas se encuentra la alta volatilidad y por ende una clara disparidad en la eficacia en condiciones de laboratorio y de campo.

Atak *et al.* (2016), en su investigación, emplearon dosis de 3 a 25 L ha^{-1} de aceite esencial de romero, en condiciones de laboratorio, logrando el control total de una especie de *Brassica* a partir de la dosis más baja. Sin embargo, al aplicarlo sobre *Avena sterilis*, una especie de monocotiledonea, el control fue más desafiante, lo que sugiere la necesidad de dosis aún más altas. Estas dosis son 100 veces superiores a las utilizadas en el presente estudio, que oscilaron entre 79 mL ha^{-1} y 275 mL ha^{-1} . Por otro lado, Singh *et al.* (2005) utilizaron bioherbicidas en base a eucalipto, tanto en laboratorio como en maceta, indicando que, en condiciones de laboratorio, las dosis variaron de 1 a 39 mL ha^{-1} , siendo inferiores a las empleadas en este estudio, logrando inhibir en un 60% la germinación de *Parthenium hysterophorus*, una maleza dicotiledónea de la familia Asteraceae, a partir de una dosis de 16 mL ha^{-1} e inhibiendo de forma absoluta la germinación con una dosis de 39 mL ha^{-1} . Sin embargo, en condiciones de campo, durante la post emergencia de *Parthenium hysterophorus*, utilizaron dosis entre 393 mL ha^{-1} y 786 mL ha^{-1} , logrando una mortalidad de plantas del 80% y aproximadamente 100% con dosis de 590 mL ha^{-1} y 786 mL ha^{-1} , respectivamente. En contraste, con dosis de 393 mL ha^{-1} solo consiguieron controlar un 30%. Esta diferencia en las dosis entre ambas investigaciones puede contribuir a explicar la falta de fitotoxicidad sobre las especies de este estudio (*L. multiflorum* y *D. stramonium*), ya que las dosis utilizadas en maceta, fluctuaron entre 157 mL ha^{-1} y 314 mL ha^{-1} , fueron la mitad que las empleadas por los autores mencionados.

Con relación a la fitotoxicidad sobre plantas de lechuga, se pudo determinar que no existieron diferencias estadísticas significativas, que den cuenta del efecto de las dosis sobre el rendimiento, sin embargo, es posible apreciar un efecto claro de deformación de las plantas, producto de la aplicación de ambos bioherbicidas, en sus respectivas dosis (Figura 2). A pesar de que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, se evidenció una tendencia hacia la reducción del peso fresco, para ambos bioherbicidas, con disminuciones del 25,19% y 18,53% para las dosis de bioherbicida de *E. globulus* de 236 mL ha⁻¹ y 314 mL ha⁻¹, respectivamente. Asimismo, para el bioherbicida de *R. officinalis* registrando reducciones del 18,6% y 17,39% para las mismas dosis. Estos hallazgos sugieren un efecto fitotóxico de ambos bioherbicidas en base de aceites esenciales, siendo mayor el efecto cuando se utilizó el bioherbicida de *E. globulus*.

Si bien sería recomendable para nuevos ensayos aumentar la dosis de bioherbicidas para el control de estas especies de maleza, en condiciones de campo, aún quedan dudas respecto al posible efecto fitotóxico de ambos bioherbicidas en las dosis aplicadas en este ensayo sobre *Lactuca sativa*, por lo cual se recomienda evaluar el efecto fitotóxico sobre otros cultivos. Ya que según Herrera-Murillo y Picado-Arroyo (2023), la selectividad puede verse afectada por las diferencias estructurales, anatómicas y fisiológicas de las plantas, por lo cual se sugiere evaluar la selectividad de estos bioherbicidas en cultivos diferentes a lechuga.

CONCLUSIONES

Los bioherbicidas provenientes de *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus*, son capaces de inhibir la germinación de semillas de *Datura stramonium* y *Lolium multiflorum* en condiciones de laboratorio con dosis de 157 mL ha⁻¹.

Los bioherbicidas en base a aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus*, en las condiciones utilizadas en este estudio, no controlan malezas como *Datura stramonium* y *Lolium multiflorum*.

Bioherbicidas de *Rosmarinus officinalis* y *Eucalyptus globulus* aplicados posterior al trasplante generan fitotoxicidad sobre el crecimiento y desarrollo de *Lactuca sativa* variedad Journey, cosechadas 50 días después de trasplante.

LITERATURA CITADA

- Alipour, M., M. Saharkhiza, M. Niakousari and M. Seidi Damyeh. 2019. Phytotoxicity of encapsulated essential oil of rosemary on germination and morphophysiological features of amaranth and radish seedlings. *Scientia Horticulturae*, 243: 131-139.
- Atak, M., K. Mavi and I. Uremis. 2016. Bio-herbicidal effects of oregano and Rosemary essential oils on germination and seedling growth of bread wheat cultivars and weeds. *Romanian Biotechnological Letter*, 21:1.
- Batish, D.R., H.P. Singh, R.K. Kumar Kohil and S. Kaur. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. 256(12):2166-2174.
- Batish, D.R., H.P. Singh, N. Setia, S. Kaur and R.K. Kohli. 2006. Chemical composition and phytotoxicity of volatile essential oils from intact and fallen leaves of *Eucalyptus citriodora*. *Z. Naturforsch*, 61: 465–471.
- Blazquez, M.A., 2014. Role of natural essential oils in sustainable agriculture and food preservation. *Journal of Scientific Research and Reports*, 3: 1843–1860.
- Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R. and Bessiere, J.M. 2003. Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 481-484.
- Blum, U. 2011. Plant-plant allelopathic interactions: Phenolic acids. *Cover Crops and Weed Emergence*. Springer, p 200.
- Capinera, J. L. 2005. Relationships between insect pests and weeds: an evolutionary perspective. *Weed Science*, 53: 892-901.
- Cheng, F. and Cheng, Z. 2015. Research progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy. *Frontiers in Plant Science*, 6: 1020.
- Cimanga, K., K. Kambu, L. Tona, S. Apers, T. De Bruyne, N. Hermans, J. Totte, L. Pieters, and A. J. Vlietinck. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharm*, 79: 213–220.
- Chatterjee, S., Gupta, S. and Variyar, S. 2015. Comparison of essential oils obtained from different extraction techniques as an identifying aroma significant compound of Nutmeg (*Myristica fragrans*). *Natural Product Communications*, 10(8): 1444-1446.

- Conde-Hernandez, L. A., J. R. Espinosa-Victoria, A. Trejo and J. A. Guerrero-Beltran. 2017. CO₂-supercritical extraction, hydrodistillation and steam distillation of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Journal of Food Engineering*, 200: 81-86.
- Duke, S., B. Scheffler, F. Dayan, L. Weston and E. Ota. 2001. Strategies for using transgenes to produce allelopathic crops. *Weed Technology*, 15(4): 826-834.
- Farooq, M., Bajwa, A., Cheema, S., Cheema, Z. 2013. Application of allelopathy in crop production. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(6): 1367-1378.
- Ferreira, A.G. e M.E.A. Aquila. 2000. Alelopatía: Uma área emergente do eco fisiología. *Revista Brasileira Fisiología Vegetal*, 12 (Suplemento especial): 175-204.
- Gharde, Y., Singh, P. K., Dubey, R. P., Gupta, P. K. 2018. Assessment of yield and economic losses in agriculture due to weeds in India. *Crop Protection*, 107: 12-18.
- Giardini, F. P., G. M. Torres, J. A. de Oliveira Gomes, D. A. Teixeira, J. D. Solano Mendoza y N. de Souza Parreiras. 2018. Alelopatía: el potencial de las plantas medicinales en el control de especies espontáneas. *Centro Agrícola*, 45: 78-87.
- Giuffré, A. and Nobile, R. 2020. *Citrus bergamia*, Risso: the peel, the juice and the seed oil of the bergamot fruit of Reggio Calabria (South Italy). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(7): 522-532.
- Gómez, M. R. 2010. Manual de prácticas. Química orgánica I (1311) (Técnicas de laboratorio). In *Destilación por arrastre de vapor*. México, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. p 80-89.
- Gupta, I., Singh, R., Muthusamy, S., Sharma, M., Grewal, K., Pal, G. and Batish, D. 2023. Plant essential oils as biopesticides: applications, mechanisms, innovations and constraints. *Plants*, 12(16): 2916.
- Hartman, H.T., D.E. Kester and D.E. Davies. 1990. *Plant propagation, principles and practices*, 5th ed. Prentice Hall Inc. Englewood. Cliffs. NJ. USA. 880 p.
- Hazratia H., Saharkhizb M.J., Niakousaric M., Moeinb M. 2017. Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142: 423-430.
- Herrera, M. 2010. Efectos alelopáticos de la aplicación de los subproductos de la industria olivícola en el olivo. *Memoria Ing. Agr. Santiago*, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 64 p.
- Herrera-Murillo, F. y Picado-Arroyo, G. 2023. Evaluación de herbicidas preemergentes para el control de arvenses en camote. *Agronomía Costarricense*, 47(1): 59-71.

ISO. 1997. ISO 9235, Aromatic natural raw materials, Vocabulary. ISO. 1, 8p. Revisado en <https://www.iso.org/standard/16866.html>. Consultado en marzo de 2020.

ISTA. 2017. Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas 2017. The International Seed Testing Association (ISTA). Zürichstr, Bassersdorf, Suiza.

Jabran, K., G. Mahajan, V. Sardana and B. S. Chauhan. 2015. Allelopathy for weed control in agricultural systems. *Crop Protection*, 72: 57-65.

Kim, K. y D. Shin. 2004. La importancia de la aleopatía en la obtención de nuevos cultivares. pp. 215-232, In: Labrada R., Manejo de malezas para países en desarrollo: addendum 1., FAO, Roma. 305p.

Kohli, R.K., D.R. Batish, H.P. Singh., 1998. Eucalypt oil for the control of parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.). *Crop Protection*, 17: 119–122.

Labrada R. y C. Parker. 1996. El control de malezas en el contexto del manejo integrado de plagas. pp. 3-8, In: Labrada R., Manejo de malezas para países en desarrollo, FAO, Roma. 403p.

Lei, G., Mao, P., He, M., Wang, L., Liu, X., Zhang, A. 2016. Water-soluble essential oil components of fresh flowers of *Osmanthus fragrans* Lour. *Journal of Essential Oil Research*, 28(3): 177-184.

Lipa, F. 2014. Estudio comparativo en el proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto mediante el método de destilación por arrastre de vapor y el método de hidrodestilación asistido por radiación microondas. Memoria Ing. Qco. Arequipa, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Facultad de Ingeniería de Procesos. 89 p.

Liu, X., Q. Chen, Z. Wang, L. Xie and Z. Xu. 2008. Allelopathic effects of essential oil from *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* on pathogenic fungi and pest insects. *Frontiers of Forestry China*, 3: 232–236.

Mamadaliyeva, N., Akramov, D., Bohmdorfer, S., Azimova, S., Rosenau, T. 2020. Extractives and biological activities of Lamiaceae species growing in Uzbekistan. *HOLZFORSCHUNG*, 74(2): 96-115.

May, F.E. and J.E. Ash. 1990. An assessment of the allelopathic potential of Eucalyptus. *Australian Journal of Botany*, 38: 245–254.

McDonald, G. K. and G. S. Gill. 2009. Chapter 18 - Improving Crop Competitiveness with Weeds: Adaptations and Trade-offs. p. 449-488. In: V. Sadras & D. Calderini (eds.). *Applications for Genetic Improvement and Agronomy*. USA.

Oerke, E. C. 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, 144: 31-43.

Oztekin, G and Tuzel, Y. 2020. Effects of oxyfertilization and plant growth promoting rhizobacteria on greenhouse lettuce grown in perlite. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 19(1): 97-105.

Patiño, L., A. Saavedra y J. Martínez. 2014. Extracción por arrastre de vapor de aceite esencial del romero. *Ciencias Tecnológicas y Agrarias*, 1: 239-252.

Pérez, C. y Castaño, D. 2018. Hidrodestilación y destilación por arrastre con vapor. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia

Piraste-Anoshe, H., Y. Emam and M.J. Saharkhiz. 2011. Use of allelopathic traits of several medicinal plants on some germination characteristics and early growth of wheat and wild oat. *Journal Field Crops Research*, 9(1): 11.

Price, S. and Price, L. 2012. *Aromatherapy for health professionals*, 4th Edition. Elsevier Health Sciences. Hinckley, Leicestershire, UK.

Ramezani, S., M.J. Saharkhiz, F. Ramezani and M.H. Fotokian. 2008. Use of essential oils as bioherbicides. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 11: 319-327.

Ramírez, R. y Pillaca, R. 2014. Extracción de aceite esencial de eucalipto. Universidad Nacional José María Arguedas. Apurímac, Perú.

Romagni, J. G., S. N. Allen and F. E. Dayan. 2000. Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 303-313.

Singh, H.P., D.R. Batish, S. and R.K. Kohli. 2005. Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. *Annals of Applied Biology*, 146: 89-94.

Singh, H.P., D.R. Batish, S. Kaur, R.K. Kohli and K. Arora, K. 2006. Phytotoxicity of the volatile monoterpene citronellal against some weeds. *Z. Naturforsch*, 61: 334-340.

Singh, H.P., D.R. Batish, S. Kaur, H. Ramezani and R.K Kohli. 2002. Comparative phytotoxicity of four monoterpenes against *Cassia occidentalis*. *Annals of Applied Biology*, 141: 111-116.

Soltani, N., Dille, A. J., Burke, I. C., Everman W. J., Vangessel M.J., Davis, V.M., Sikkema. P.H. 2017. Perspectives on potential soybean yield losses from weeds in North America. *Weed Technology*, 31: 148-154.

Taquire, A. F. 2022. Rendimiento de aceite esencial en hojas de romero (*Rosmarinus officinalis* L.). *Prospectiva niversitaria*, 3(1), 50-52.

Vásquez, O., Alva, A., Marreros, J. 2001. Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1: 38-42.

Weed Science Society of America. 2016. Do you have a weed, noxious weed, invasive weed or “superweed”. 2006. WSSA Fact Sheet. 4p.

Zimdahl, R. L. 2018. Fundamentals of Weed Science. 5th edition. Department of Bioagricultural Sciences and Pest Management Colorado State University. Fort Collins, Colorado, USA.

APÉNDICES

Apéndice I. Listado de ensayos de germinación realizados en laboratorio, dentro de los cuales se especifica los tratamientos utilizados en cada uno. En cada ensayo se realizó además un tratamiento control, independiente para cada uno.

Ensayo	Tratamientos ¹
E01	1 al 5
E02	6 al 9
E03	9 al 15
E04	13 al 15
E05	16 al 21
E06	18 y 21
E07	21 al 23

¹/ Ver Apéndice II

Apéndice II. Listado de tratamientos realizados en los ensayos de germinación en laboratorio. Se especifica para cada tratamiento la dosis y la concentración expresada en porcentaje de bioherbicida respecto a la dilución resultante.

Tratamiento	Concentración	Dosis	Germ. <i>R.officinalis</i>		Germ. <i>E.globulus</i>	
			<i>Datura stramonium</i>	<i>Lolium multiflorum</i>	<i>Datura stramonium</i>	<i>Lolium multiflorum</i>
	%	mL ha ⁻¹	%			
T01	100,00000	7.859.503,4	0,0	0,0	0,0	0,0
T02	80,00000	6.287.602,7	0,0	0,0	0,0	0,0
T03	60,00000	4.715.702,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T04	40,00000	3.143.801,4	0,0	0,0	0,0	0,0
T05	20,00000	1.571.900,7	0,0	0,0	0,0	0,0
T06	15,00000	1.178.925,5	0,0	0,0	0,0	0,0
T07	10,00000	785.950,3	0,0	0,0	0,0	0,0
T08	5,00000	392.975,2	0,0	0,0	0,0	0,0
T09	1,00000	78.595,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T10	0,80000	62.876,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T11	0,50000	39.297,5	0,0	0,0	0,0	0,0
T12	0,30000	23.578,5	0,0	0,0	0,0	0,0
T13	0,10000	7.859,5	0,0	0,0	0,0	0,0
T14	0,01000	786,0	0,0	0,0	0,0	0,0
T15	0,00500	393,0	3,3	2,4	3,6	0,0
T16	0,00350	275,1	13,9	2,0	13,3	1,9
T17	0,00300	235,8	9,2	3,9	10,0	1,0
T18	0,00250	196,5	23,1	4,9	30,0	8,7
T19	0,00200	157,2	16,9	12,8	18,3	16,4
T20	0,00150	117,9	29,2	18,6	25,0	19,2
T21	0,00100	78,6	49,2	30,4	33,3	49,0
T22	0,00050	39,3	68,0	36,8	66,0	52,4
T23	0,00025	19,7	70,0	58,6	75,0	58,6
T00	0,00000	0,0	100,0	100,0	100,0	100,0