

“HIDROLATO DE LA ESPECIE NATIVA DE SAN JUAN *ALOYSIA GRATISSIMA* COMO UN POTENCIAL BIOHERBICIDA”

Elizondo, Fernanda ^a; Zaragoza Daniel ^{a, b, c}, Jessica Gómez ^{a, c, d}

a- Departamento de Agronomía, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de San Juan.

b- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria).

c- Instituto de Biotecnología- Universidad Nacional de San Juan, Av. Libertador General San Martín 1109 (O), San Juan CP 5400, Argentina

d- CONICET (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), CABA, Buenos Aires C1405DJR, Argentina. ferhue@gmail.com

Resumen

La creciente necesidad mundial de encontrar alternativas a los herbicidas sintéticos para el control sostenible de malezas ha generado un interés considerable en explotar el potencial herbicida natural de las plantas. Sumado a esto, en los últimos años, se han realizado numerosos estudios de bioprospección en plantas nativas de la provincia de San Juan. Teniendo en cuenta la problemática agrícola sobre el uso de herbicidas sintéticos, se evaluó el potencial bioherbicida del hidrolato de la especie nativa *Aloysia gratissima* de la provincia de San Juan mediante ensayos de germinación *in vitro* en dos tipos de malezas monocotiledónea y dicotiledónea. El hidrolato se obtuvo por hidrodestilación en un equipo tipo Clevenger a partir de 100 g de material fresco de las partes aéreas de la planta. En cada placa de Petri, se colocó 10 semillas de las malezas estudiadas sobre un disco de papel de filtro seco. Luego, se incorporó 3 mL del hidrolato y se sellaron con parafilm. Posteriormente, las cajas se ubicaron en una cámara de crecimiento controlado en oscuridad a 25 °C. La germinación fue monitoreada cada 24 horas durante 10 días, y las semillas que presentaron radículas mayores a 1 mm se consideraron como germinadas, el ensayo se realizó por triplicado. Las semillas tratadas con el hidrolato de *A. gratissima* exhibieron porcentajes de inhibición de la germinación cercanos al 90 %. Los resultados obtenidos indican que esta especie nativa presenta un importante potencial como bioherbicida, y sienta las bases para futuros estudios *in vivo* en sistemas agrícolas.

Palabras clave: Bioherbicida, especie nativa, productos naturales.

INTRODUCCIÓN

La creciente necesidad mundial de encontrar alternativas a los herbicidas sintéticos para el control sostenible de malezas ha generado un interés considerable en explotar el potencial herbicida natural de las plantas (Puig y col., 2018). Esto se debe a que el manejo de malezas en un sistema orgánico es más complicado que en un sistema convencional, principalmente debido a las restricciones en el uso de herbicidas (Bastiaans; Paolini y Baumann, 2008). Estos últimos, son fáciles de aplicar y comercializados ampliamente, aunque en los últimos años se ha restringido el empleo de algunos productos químicos en la agricultura debido a la creciente concientización de los consumidores y a los problemas medioambientales relacionados con los herbicidas sintéticos, como lo son sus residuos y la resistencia generada en las malezas, de manera que se

preserve la salud humana y la del medio ambiente (De Mastro, El Mahdi, y Ruta, 2021). Al estudiar las limitaciones existentes en los métodos de control directo de malezas, es posible definir las necesidades y oportunidades de investigación sobre los bioherbicidas. Por lo tanto, el control de las malezas se está adaptando cada vez más una combinación de herramientas y prácticas que constituyan estrategias sostenibles, teniendo en cuenta los ciclos y las interacciones de los sistemas naturales.

En este contexto, la investigación sobre el control de malezas se ha centrado recientemente en diferentes productos naturales como extractos acuosos, aceites esenciales y/o compuestos obtenidos de especies vegetales (Puig y col., 2018; Alanaz y col., 2023).

En los últimos años, se han realizado numerosos estudios de bioprospección en plantas

nativas de la provincia de San Juan (Gómez y col., 2019a; Gómez y col., 2019b; Gómez y col., 2020; Gómez y col., 2021; Manrique y col., 2023). A partir de ellos, se han dado a conocer los perfiles químicos de estas especies, con un número significativo de metabolitos, los que han sido documentados con diversas actividades biológicas comprobadas (Andújar y col., 2013; Karim y col., 2018; Özaslan y col., 2018) y por ello, podrían actuar como fuentes promisorias para el desarrollo de bioherbicidas.

OBJETIVO

Teniendo en cuenta la problemática agrícola sobre el uso de herbicidas sintéticos, y considerando los antecedentes antes expuestos, se propuso como objetivo de trabajo evaluar el potencial bioherbicida del hidrolato de la especie nativa *Aloysia gratissima* de la provincia de San Juan, mediante ensayos de germinación *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

• Obtención de Hidrolato

El hidrolato de *Aloysia gratissima* se obtuvo por hidrodestilación en un equipo tipo Clevenger a partir de 100 g de material fresco de las partes aéreas de la planta.

• Actividad Bioherbicida

Para evaluar el potencial bioherbicida del hidrolato de *A. gratissima*, se empleó el ensayo de inhibición de la germinación propuesto por De Mastro y col. (2021), con algunas modificaciones. El ensayo se realizó utilizando dos tipos de malezas: *Lolium perenne* (monocotiledónea) y *Chenopodium album* (dicotiledónea). Las semillas se esterilizaron con solución de NaHCl al 5%. En cada placa de Petri se colocó un disco de papel de filtro seco y estéril, sobre el cual se distribuyeron 10 semillas de las malezas estudiadas. Posteriormente, se incorporaron 3 mL del hidrolato, las cajas se sellaron con parafilm y se colocaron en una cámara de crecimiento controlado en oscuridad a 25 °C. Al control negativo se le incorporaron 3 mL de agua destilada estéril. Mientras que, el control positivo fue tratado con S-metolacoloro (DualGold).

La germinación en las placas de Petri se monitoreo cada 24 horas durante 10 días, y las semillas que presenten radículas mayores a 1 mm se consideran

como germinadas. Al final del experimento, el número total de semillas germinadas se empleó para calcular el porcentaje de germinación de los tratamientos y la inhibición de la germinación (De Mastro y col., 2021), además se calculó en índice de control de malezas de ALAM (ALAM, 1974), dichos parámetros se calcularon como se detalla a continuación:

Porcentaje de germinación (GP)

$GP = ((\text{Número de semillas germinadas en el recuento final}) / (\text{Número total de semillas por bioensayo})) \times 100.$

Inhibición de la germinación (IG)

$GI = ((GP(\text{Agua}) - GP) / (GP(\text{Agua}))) \times 100.$

GI es el porcentaje de inhibición de la germinación (%); GP (Agua) es el porcentaje de germinación del tratamiento del agua; GP es el porcentaje de germinación para cada tratamiento.

Índice de control de malezas de ALAM

El porcentaje de control se determinó a través de la ecuación:

$$\% \text{ Control} = ((PMT - PMTr) / PMT) * 100$$

Donde: PMT: Peso maleza en control y
PMTr: Peso maleza en tratamiento

Tabla 1. Escala de control de malezas (%), propuesta por la ALAM (1974)

Porcentaje (%)	Grado de Control
0-40	Pobre (1)
41-60	Regular (2)
61-70	Suficiente (3)
71-80	Bueno (4)
81-90	Muy Bueno (5)
91-100	Excelente (6)

• Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de los distintos tratamientos. Para aquellas variables que no cumplieron con los supuestos predichos por ANOVA, se realizó un análisis de la varianza no paramétrica por medio de la Prueba de Kruskal Wallis. Se utilizó el software de la versión InfoStat 2020p (Di Rienzo y col., 2014).

RESULTADOS

Las semillas tratadas con el hidrolato de *A. gratissima* exhibieron porcentajes de inhibición de la germinación cercanos al 90 % para ambas malezas (Imagen 1). El hidrolato ensayado presentó mayor eficiencia en el modelo de maleza monocotiledónea, demostrando porcentajes de inhibición muy similares al del control positivo (Gráfico 1).

Imagen 1. A_ Control negativo. B_ Repeticiones del tratamiento realizado con el hidrolato de *A. gratissima* en semillas de monocotiledónea.

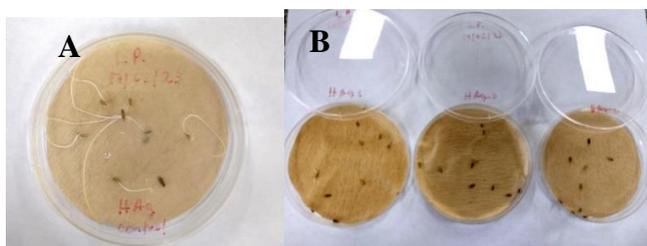
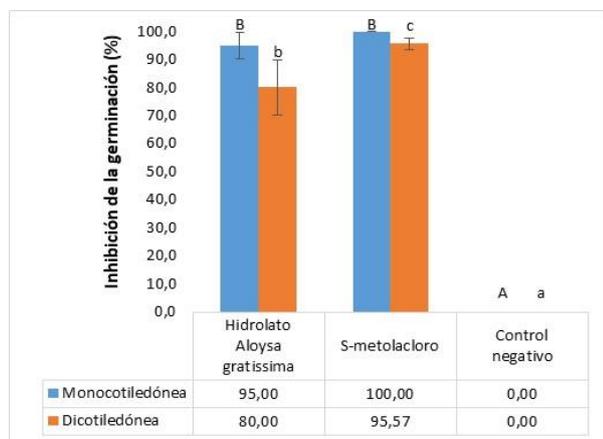


Gráfico 1. Porcentaje de Inhibición de la germinación del hidrolato de *A. gratissima* para los dos modelos ensayados. Barras del mismo color que comparten letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).



DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos y considerando la escala de ALAM, se puede concluir que el hidrolato de *Aloysia gratissima* presenta un grado de control excelente para maleza monocotiledóneas, mientras que, para las dicotiledóneas exhibió un grado bueno. Los valores registrados en los ensayos concuerdan con otros estudios de actividad bioherbicida realizados con diferentes productos naturales obtenidos de plantas

silvestres, donde se alcanzaron efectos negativos sobre la germinación de malezas (Pardo-Muras y col., 2020; De Mastro y col., 2021; Alanaz y col., 2023).

Considerando los datos obtenidos en el presente estudio, se podría plantear a la especie nativa *A. gratissima* como una fuente potencial para el desarrollo de bioherbicidas. Al mismo tiempo que, se sientan las bases para futuros estudios *in vivo* en sistemas agrícolas que confirmen y respalden los ensayos preliminares aquí presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, 4th ed.; Adams, R.P., Ed.; Allured Publishing Corporation: Carol Stream, IL, USA, 2007; ISBN 1932633219.
- Alanaz, A. R.; Alatawi, E. A. S.; Alotaibi, R.S.; Alatawi E. A. H.; Albalawi, A. D.; Alhumayri H. A.; Alatawi Q. S.; and Alharbi B. M. (2023) The Bioherbicidal potential of some wild plants with allelopathic effects from Tabuk Region on selected local weed species. *Front. Plant Sci.* 14, 1286105.
- Bastiaans, L.; Paolini, R.; Baumann, D.T. (2008). Focus on ecological weed management: What is hindering adoption Weed Res. 48,481–491.
- De Mastro, G.; El Mahdi, J.; Ruta, C. (2021). Bioherbicidal Potential of the Essential Oils from Mediterranean Lamiaceae for Weed Control in Organic Farming. *Plants*, 10, 818.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. (2014). InfoStat; Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba: Córdoba, Argentina. Disponible en: www.infostat.com.ar
- El Mahdi J., Tarraf W; Ruta C.; Piscitelli L.; Aly A.; De Mastro G. (2020). Bio-Herbicidal Potential of the Essential Oils from Different *Rosmarinus officinalis* L. Chemotypes in Laboratory Assays. *Agronomy*, 10, 775.
- Pardo-Muras, M.; Puig C. G.; Soutob X. C.; Pedrol N. (2020). Water-soluble phenolic acids and flavonoids involved in the bioherbicidal potential of *Ulex europaeus* and *Cytisus scoparius*. *Revista Sudafricana de Botánica*, 133, 201-211.
- Puig, C.G.; Reigosa, M.J.; Valentão, P.; Andrade, P.B.; Pedrol, N. (2018). Unravelling the bioherbicide potential of *Eucalyptus globulus* Labill: Biochemistry and effects of its aqueous extract. *PLoS ONE* 13, e0192872.
- Chang, C. C.; Yang, M.Y.; Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.*, 10, 178-182.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.