

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y
DEL MEDIO NATURAL**

DEPARTAMENTO DE ECOSISTEMAS AGROFORESTALES



**FITOTOXICIDAD DE ACEITES ESENCIALES
Y EXTRACTOS ACUOSOS DE PLANTAS
MEDITERRÁNEAS PARA EL CONTROL DE
ARVENSES**

TESIS DOCTORAL

MERCEDES VERDEGUER SANCHO

VALENCIA, JUNIO DE 2011

**DIRECTORES: HERMINIO BOIRA TORTAJADA Y
M^a AMPARO BLÁZQUEZ FERRER**

A la memoria de
Carmen Verdeguer y
Paco Villaescusa

AGRADECIMIENTOS

Nunca creí que llegaría este momento, en que pondría fin a la escritura de la Tesis pensando en todas las personas que habéis hecho posible que llegara hasta aquí. El camino ha sido largo y difícil, pero el esfuerzo ha valido la pena. Gracias a todos.

En primer lugar, a Fredi, por su paciencia y comprensión siempre, así como por su valiosa ayuda como recolector de plantas y registrador de datos en los conteos estivales en el invernadero, y por estar siempre ahí, compartiendo todo conmigo.

A mis padres, Antonio y Mercedes, porque sin ellos no sería lo que soy. Por todas las preocupaciones pasadas y por estar constantemente dispuestos a todo. Porque desde pequeña me acostumbré a ver bonitas flores en casa y a amar la Agronomía. Porque me han ayudado siempre, en todo lo que han podido y han sido un modelo a seguir en mi vida. Por ser también sufridos recolectores de plantas y a mi padre en especial por ayudarme en la realización del ensayo de campo.

A mis suegros, Alfredo y Maribel, por su cariño y apoyo en todo momento y por los buenos ratos pasados recogiendo *Cistus ladanifer* en El Escorial.

A mis hermanos Toni y Patri y cuñados, Aitor, Patri, Javi y Ana, por la paciencia que habéis tenido en estos años, excusándome en reuniones familiares cuando tenía demasiado trabajo, y aguantando el monotema de conversación. A mi sobrinito Daniel, por ser la alegría de la casa.

A mi tía Pilar Fuentes, por sus atenciones y cariño constante.

A mi prima/amiga Carmela, por haberme soportado y apoyado todos estos años, mostrándome siempre su cariño y comprensión.

A todos mis familiares, en especial los setabenses, por estar siempre ahí preguntando por mí, sobre todo a mi prima María, por tantas comidas compartidas, alegrando mis días en la Universidad y a Anita, por su estupenda compañía en Alemania.

A mis amigos, por acompañarme en todos los momentos de mi vida, y por aguantarme en estos años difíciles, teniendo siempre palabras de ánimo. En especial a Su, por pasarme su experiencia previa en estas lides, a Vicente, Laura, Carmen y Nacho, por sus llamadas y preocupación constantes, sus visitas sorpresa y por estar siempre ahí. A mis compañeros/amigos agrónomos: Noelia, Lupita, Camino, Xus, Caroline, M^a del Mar, Pilar, Pablo, Carles, Gema y Rosana. También gracias a Raquel, Elías, Mónica, Xisco, Susana, Ricardo, Fran, Ana, Josean, Gonzalo, M^a José, Jorge, Guillermo, Luís, Amparo, Lidia, Lucía, Jaume, Paula, Moni, Silvia, Paco, Inma, Jose, Isa, M^a Ángeles, Jesús, María, Germán, Fabri y Raquel. A mis amigas del PAU, Esther y Rosa por las experiencias compartidas que nos hacen avanzar juntas, por sus ánimos continuos y por la ayuda con el Word y sus truchitos.

A Pepe Caudevilla, Josemi y los amigos de mis padres, por ser mis fans incondicionales y por sus ánimos y apoyo constantes todos estos años.

A todos mis compañeros del IAM, por compartir conmigo momentos buenos y no tan buenos en el día a día, en especial a Carmina, Carlos, Amparo y María por ser un referente y un apoyo constante para mí, además de buenos amigos, y también a Paloma, Carmen, Toñi, Isabel y Ana, por su cariño y sus ánimos en todo momento.

A mis compañeros del CEQA, en especial a Nuria, Sandra y Pau, por la ayuda prestada en todo momento, así como por la amistad forjada mientras analizábamos aceites esenciales. También a Jaime Primo, por permitirme trabajar en sus laboratorios como un miembro más de su grupo.

A Vicente Guardiola y Mapi, por la ayuda prestada en los análisis de los extractos acuosos, y por su atención y disponibilidad en todo momento.

A Manolo Agustí, porque él me inició en la investigación y es un modelo a seguir y un amigo en el día a día, por los buenos consejos y el apoyo prestado en todo momento.

A Franca Barone, porque gracias a ella pude conocer a mi “familia” de Palermo, y por el cariño que siempre me ha mostrado.

A mis amigos/familia de Palermo: Adele, Marcello, Cinzia, Silvia, Giusi, Claudia, Santo, Giancarlo, Giovanni, Antonio... por haberme hecho sentir como en casa, y por los buenos momentos compartidos en el CRA y en nuestras salidas varias... en especial, gracias a Adele, por todo el tiempo dedicado, los viajes en moto, el trabajo a horas intempestivas, las cenas con pizza, los buenos consejos y su ayuda y cariño en todo momento. Gracias a Santo, por haberme llevado a recolectar *Thymus capitatus* cuando nadie creía que podíamos encontrarlo, y por proporcionarme la *Tagetes lemmonii*, también por su disponibilidad y cuidados en todo momento. Gracias a las chicas, por hacer mi día a día en Palermo tan agradable, y sobre todo por haberme acogido como una más entre vosotras. Gracias a Marcello por todos los momentos vividos, tanto en Palermo como en Valencia, porque hemos madurado juntos compartiendo experiencias, y lo que nos queda...

A los amigos/familia milanesa: Gabri, Ilaria, sus papás y demás familia.

A Alessandra Carrubba, por haber aceptado ser mi tutora en Palermo, y mostrarme su ayuda en todo momento, además de brindarme su amistad.

A Giovan Vito Zizzo, por acogerme en el CRA como una más, facilitando mi trabajo en todo lo posible, y por los buenos momentos compartidos.

A todos los que me habéis ayudado en la fase final de la Tesis: Carmen, Bea, Sofía, Laura, Baptista, Irene, Begoña y Melania por los buenos momentos compartidos. A Paco y Susana, por facilitar todos los trámites y ser siempre un apoyo.

A mi compi David, por todos los momentos compartidos estos años, por estar siempre dispuesto a echarme una mano, por las experiencias que hemos vivido juntos, por su paciencia, por ofrecerme su amistad, su cariño y apoyo cada día.

He dejado para el final a mis directores, porque sin ellos no habría sido posible la realización de esta Tesis. Gracias a Herminio Boira, por haber sido siempre mi guía, transmitiéndome todos sus conocimientos, tanto humanos como científicos, y por haber compartido conmigo su pasión por la Botánica, además de ofrecerme su cariño y amistad a lo largo de los muchos años que nos conocemos, y por haber confiado en mí en todo momento. Gracias a M^a Amparo Blázquez, por todos los buenos momentos vividos en estos años, por los conocimientos que me ha transmitido, por compartir conmigo su experiencia y ayudarme en todo momento, por su disponibilidad, comprensión y cariño, y por ser además de directora, amiga.

PUBLICACIONES Y CONGRESOS

Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2007. Germination inhibition of *Amaranthus hybridus* L. and *Portulaca oleracea* L. by *Lantana camara* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Eriosephalus africanus* L. extracts, en: 50 Years of the Phytochemical Society of Europe. Highlights in the Evolution of Phytochemistry. Abstract Book, Cambridge, UK, 11-14 April 2007, pp. 135-136.

Merle, H., Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2007. Chemical composition of the essential oils from *Eriosephalus africanus* L. var. *africanus* populations growing in Spain. *Flavour and Fragrance Journal* 22, 461-464.

Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2009. Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriosephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology* 37, 362-369.

Verdeguer, M., Garcia, D., Blázquez, M.A., Boira, H., 2009. Potencial alelopático de extractos acuosos de *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* y *Eriosephalus africanus* y posible uso como herbicidas naturales, en: *Herbología e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável* vol. 1, pp. 403-406.

Salamone, A., Lazzara, S., Verdeguer, M., Boira H., Blázquez, M.A., 2010. Antifungal and herbicidal activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér. essential oils, en: Program and Abstracts 16th International Reinhardtsbrunn Symposium. Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Friedrichroda (Alemania), 25-29 April 2010, p. 170.

Verdeguer, M., Agnello, S., Blázquez, M.A., Boira, H., 2011. Herbicidal activity of *Tagetes lemmonii* A. Gray essential oil from Sicily, en: CIPAM 2011. 3th International Congress on Aromatic and Medicinal Plants. Book of Abstracts, Cagliari (Italia), 13-15 April 2011, p. 262.

Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2011. Chemical composition and herbicidal activity of *Cistus ladanifer* L. essential oil from Spain. *Natural Product Research*. In press.

RESUMEN

El hombre, desde que aprendió a domesticar y cultivar las plantas, dando lugar al nacimiento de la agricultura en el Neolítico, ha necesitado obtener el máximo rendimiento de la tierra. Para ello, ha introducido diferentes técnicas: abonado, irrigación y control de plagas (insectos, enfermedades y arvenses). El desarrollo de los productos químicos para uso agrícola a partir de los años 40, produjo un gran incremento en la productividad agraria, basado en el empleo de abonos y pesticidas de síntesis, y en la introducción de cultivares procedentes de mejora genética. Con el tiempo, se manifestaron las consecuencias negativas de la utilización abusiva de estos productos. En concreto, el empleo excesivo de herbicidas sintéticos provoca la aparición de estirpes de arvenses resistentes, y su acumulación en el suelo y aguas subterráneas produce efectos perjudiciales sobre los seres vivos y la salud de las personas.

Desde los años 90, la normativa que regula los productos agroquímicos impone más restricciones, respondiendo a una sociedad cada vez más concienciada de los peligros de su empleo intensivo. Ello ha impulsado la búsqueda de otros métodos alternativos para el control de arvenses, basados en productos naturales, que sean respetuosos con el medio ambiente. La alelopatía, que estudia la interacción entre plantas (incluyendo microorganismos) a través de sus metabolitos secundarios, liberados mediante volatilización, exudación y lixiviación de tejidos vegetales, constituye en este sentido un campo de investigación relativamente moderno. Los aleloquímicos que impiden el desarrollo de plantas en el entorno de la planta fuente han recibido especial atención debido a su potencial como herbicidas naturales.

La presente tesis doctoral tiene como objetivo principal el ensayo de la actividad fitotóxica de diferentes aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas sobre la germinación y el crecimiento de arvenses, con el fin de escoger los más activos, para desarrollarlos en un futuro como herbicidas naturales. Se seleccionaron especies productoras de aceites esenciales, en base a la bibliografía existente sobre la actividad biológica de sus metabolitos secundarios o de especies taxonómicamente cercanas: *Lantana camara* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Eriosephalus africanus* L., *Cistus ladanifer* L., *Artemisia gallica* Willd., *Artemisia annua* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link, *Tagetes lemmonii* A. Gray, *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér., *Thymus vulgaris* L. y *Origanum vulgare* L., de las que se obtuvieron los aceites esenciales y extractos acuosos. Como arvenses se eligieron las especies *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Chenopodium album* L., consideradas como muy problemáticas y extendidas en numerosos cultivos, y *Coryza canadensis* (L.) Cronq. y *Parietaria judaica* L., por ser arvenses ruderales de reciente incorporación en cultivos debido a cambios en las prácticas agrícolas, como el empleo del no laboreo.

La composición de los aceites esenciales fue determinada por CG y CG-EM. Los extractos acuosos se analizaron por CLAR-EM.

Se realizaron ensayos *in vitro*, en cámaras de germinación para evaluar los efectos de los distintos extractos acuosos y aceites esenciales sobre la germinación y el crecimiento de las arvenses. Los aceites esenciales y extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer* y *A. gallica* se ensayaron sobre el total de arvenses propuestas, mientras que el resto de aceites esenciales se ensayaron únicamente frente a *P. oleracea* y *C. canadensis*. Todos los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados manifestaron efectos fitotóxicos *in vitro* frente a alguna de las arvenses sobre las que se aplicaron, siendo su actividad dependiente de la dosis empleada, o no constatándose diferencias entre concentraciones. En general, los aceites esenciales revelaron mayor fitotoxicidad que los extractos acuosos de la misma especie, siendo activos frente a mayor número de arvenses y produciendo efectos más severos. En *L. camara* y *E. africanus* se observó un efecto complementario entre la actividad del aceite esencial y el extracto acuoso, siendo efectivo uno en especies donde no lo había sido el otro y viceversa. Los aceites esenciales de *E. camaldulensis*, con espatulenol como componente mayoritario, y *T. capitatus*, con gran contenido en carvacrol fueron los tratamientos más efectivos. *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica* mostraron una germinación muy sensible a los efectos de la mayoría de aceites esenciales ensayados, mientras *P. oleracea* y *C. album* se mostraron más resistentes. Ningún aceite esencial inhibió la germinación de *C. album* al 100%. En esta especie, los extractos acuosos mostraron mayores efectos fitotóxicos, siendo el extracto de *L. camara* el tratamiento más efectivo para su control. *C. canadensis* fue la especie más sensible a los extractos acuosos.

El potencial herbicida de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* y *C. ladanifer* se ensayó en invernadero. De ellos, los tres primeros, se evaluaron también en campo, siendo *E. camaldulensis* y *E. africanus* los que mostraron mayor actividad. El efecto de los extractos más activos en invernadero, tras una sola aplicación, se mantuvo hasta seis semanas, mientras que en campo, con tres aplicaciones distanciadas quince días, el efecto se prolongó durante dieciséis semanas. Por otra parte, se evaluó en invernadero el potencial herbicida de dos de los aceites esenciales que resultaron más activos en los ensayos *in vitro* (*E. camaldulensis* y *E. africanus*), no mostrando actividad a la dosis ensayada (0.5 µl/ml).

Los resultados obtenidos en los ensayos *in vitro*, indican que los extractos acuosos y aceites esenciales probados muestran una actividad fitotóxica selectiva, siendo sus efectos distintos según la especie sobre la que actúan, lo que les convierte en potenciales herbicidas selectivos. No obstante, se deben llevar a cabo más pruebas en condiciones reales de cultivo, en invernadero y campo, para verificar su potencial. Si bien los extractos acuosos mantuvieron su actividad al realizar pruebas de invernadero, los aceites esenciales no mostraron el efecto esperado debido a su alta volatilidad, siendo necesario desarrollar otras fórmulas de aplicación como la microencapsulación, que facilitaría su manejo y aumentaría su efecto, al reducir su volatilización y ralentizar su degradación al medio ambiente.

ABSTRACT

Since man learned to domesticate and grow plants in the Neolithic period, resulting in the birth of agriculture, has needed to maximize crops production. To increase yields, different techniques are employed: fertilization, irrigation and pests (insects, fungal pathogens and weeds) control. The development of agrochemical products in the 1940s increased agricultural productivity, based on the employment of chemical fertilizers and pesticides and the use of genetically modified crops. The overuse of agrochemicals involved negative consequences: the excess use of synthetic herbicides caused resistant weeds and severe contamination to the environment, due to accumulation in soils and ground water, with negative impacts in living organism and human health.

Since the 1990s, agrochemical products regulation is becoming more restrictive, according with the requirements of a society concerned about negative impacts of its widespread use. Other techniques based on natural products to control weeds are being developed, because of its safety for environment and human health. Allelopathy, based in plant interactions (including microorganisms) through release of secondary metabolites by volatilization, exudation and lixiviation from vegetal tissues, offers new possibilities for weed control. Allelochemicals that suppress plant species near the source plant have received special attention due to its potential as natural herbicides.

The main objective of this work is to test phytotoxic activity of essential oils and aqueous extracts from mediterranean plants against weeds germination and seedling growth, to select the more actives in order to develop them as natural herbicides. Species that elaborate essential oils were selected based on the existing literature about the biological activities of their secondary metabolites or of that from species taxonomically closed: *Lantana camara* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Eriocephalus africanus* L., *Cistus ladanifer* L., *Artemisia gallica* Willd., *Artemisia annua* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link, *Tagetes lemmonii* A. Gray, *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér., *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. and their essential oils and aqueous extracts were obtained. As weedy species were selected *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. and *Chenopodium album* L., because they are considered serious and problematic weeds in many crops around the world, and another two ruderal weeds recently found in crops due to changes in agricultural techniques, as no-tillage practices, *Conyza canadensis* (L.) Cronq. and *Parietaria judaica* L.

Essential oils were analyzed by means of GC and GC-MS and aqueous extracts by HPLC-MS.

In vitro assays were performed in germination chambers to assess the effects of essential oils and aqueous extracts on weeds germination and seedling growth. Essential oils and aqueous extracts from *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*,

C. ladanifer and *A. gallica* were tested against all selected weeds. The other essential oils were tested against both *P. oleracea* and *C. canadensis*. All essential oils were phyto-toxic against at least one weed species, being their activity dose-dependent or not showing significant differences between concentrations. In general, essential oils revealed to be more phytotoxic than aqueous extracts obtained from the same species, acting against more weeds and causing more severe damages. A complementary activity was observed between essential oils and aqueous extracts from *L. camara* and *E. africanus*, as one was effective against species where the other did not show any effect and vice versa. Essential oils from *E. camaldulensis*, with spathulenol as the main compound, and *T. capitatus*, which contained high levels of carvacrol, were the most effective treatments. *A. hybridus*, *C. canadensis* and *P. judaica* germination was very sensitive to the majority of essential oils, whereas *P. oleracea* and *C. album* showed more resistance. None of the essential oils tested inhibited completely *C. album* germination. In this species, aqueous extracts manifested greater phytotoxic activity, being *L. camara* aqueous extract the best treatment to control it. *C. canadensis* was the most sensitive species to aqueous extracts effects.

Herbicidal potential of *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* and *C. ladanifer* aqueous extracts was tested under greenhouse conditions. All except *C. ladanifer* were also evaluated under field conditions. *E. camaldulensis* and *E. africanus* showed more activity. Their effect, after only one application, was maintained during six weeks, under greenhouse conditions. In field conditions, three applications every fifteen days extended their effect for sixteen weeks. Likewise, the herbicidal potential of *E. camaldulensis* and *E. africanus* essential oils, which showed phytotoxic activity *in vitro*, was tested under greenhouse conditions, displaying no effect at the doses employed (0.5 µl/ml).

The results obtained from *in vitro* bioassays revealed that essential oils and aqueous extracts tested showed selective phytotoxic activity, being their activity dependent of the species against they act, so they could be developed as natural selective herbicides. However, future experiments, involving greenhouse and field conditions must be performed in order to verify their herbicidal potential. Aqueous extracts maintained their activity under greenhouse conditions but essential oils lost it, due to their high volatility. Application of essential oils must be improved with other formulations, as microencapsulation, which would simplify their handling, and increase their effectiveness by reducing their volatilization and slow down their degradation in the environment.

RESUM

L'home, des que va aprendre a domesticar i cultivar les plantes, donant lloc al naixement de l'agricultura en el Neolític, ha necessitat obtenir el màxim rendiment de la terra. Per aconseguir-lo, ha introduït diferents tècniques: abonament, reg, i control de plagues (insectes, infèrmetats i males herbes). El desenvolupament dels productes químics per l'ús agrícola en els anys 40 va ocasionar un gran increment en la productivitat agrària, basat en l'utilització dels fertilitzants i pesticides de síntesi i en la introducció de cultivars procedents de millora genètica. Amb el temps, se van manifestar les conseqüències negatives de l'ús excessiu d'aquests productes. En concret, l'abús dels herbicides sintètics produeix l'aparició d'estirps de males herbes resistents, i la seua acumulació en la terra i les aigües subterrànies causa efectes perjudicials en els sers vius i la salut de les persones.

Des dels anys 90, la normativa que regula els productes agroquímics, imposa cada vegada més restriccions, responant a les demandes d'una societat cada vegada més conscienciada dels perills del seu ús intensiu. Això ha impulsat la recerca d'altres mètodes alternatius per al control de les males herbes, basats en productes naturals, que siguin respectuosos amb el medi ambient. L'al·lelopatia, que estudia les interaccions entre plantes (inclosos els microorganismes) mitjançant els seus metabòlits secundaris, que són alliberats per volatilització, exsudació i lixiviació dels teixits vegetals, constitueix un camp d'investigació relativament modern. Els al·leloquímics que impedeixen el desenvolupament de plantes en el entorn de la planta font han rebut especial atenció, per el seu potencial com a herbicides naturals.

Aquest treball té com a objectiu principal l'assaig de l'activitat fitotòxica de diferents olis essencials i extractes aquosos de plantes mediterrànies sobre la germinació i el creixement de males herbes, per seleccionar els més actius i poder desenvolupar-los en un futur com a herbicides naturals. Es van escollir espècies productores d'olis essencials, en base a la bibliografia existent sobre els seus metabòlits secundaris o els d'espècies taxonòmicament properes: *Lantana camara* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Eriocephalus africanus* L., *Cistus ladanifer* L., *Artemisia gallica* Willd., *Artemisia annua* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link, *Tagetes lemmonii* A. Gray, *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér., *Thymus vulgaris* L. i *Origanum vulgare* L., de les que es van obtenir els olis essencials i els extractes aquosos. Com a males herbes es van elegir *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. i *Chenopodium album* L., perquè són problemàtiques i afecten a nombrosos cultius, i *Coryza canadensis* (L.) Cronq. i *Parietaria judaica* L., perquè són plantes ruderals que recentment s'han incorporat als cultius degut a canvis en les practiques agrícoles, com l'ús del no conreu.

La composició dels olis essencials es va determinar per CG i CG-EM. Els extractes aquosos es van analitzar per CLAR-EM.

Es van realitzar proves *in vitro*, en càmeres de germinació, per avaluar els efectes dels olis essencials i els extractes aquosos en la germinació i el creixement de les males herbes. Els olis essencials i extractes aquosos de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer* y *A. gallica* s'assajaren en totes les espècies de males herbes seleccionades, mentre els restants olis essencials es van provar només front a *P. oleracea* y *C. canadensis*. Tots els olis essencials i extractes aquosos assajats van manifestar efectes fitotòxics *in vitro* enfront a alguna espècie de mala herba, sent la seua activitat dependent de la dosi empleada o no constatant-se diferències entre concentracions. En general, els olis essencials van revelar major fitotoxicitat que els extractes aquosos de la mateixa espècie, sent actius davant major número de males herbes i produint efectes més severes. En *L. camara* i *E. africanus* es va observar un efecte complementari entre l'activitat de l'oli essencial i l'extracte aquós, sent efectiu l'un en espècies a on no lo havia sigut l'altre i viceversa. Els olis essencials de *E. camaldulensis*, amb espatulenol com a component majoritari, i *T. capitatus*, amb gran contingut en carvacrol van ser els tractaments més efectius. *A. hybridus*, *C. canadensis* i *P. judaica* van mostrar una germinació molt sensible als efectes de la majoria dels olis essencials assajats, mentre *P. oleracea* i *C. album* es van mostrar més resistents. Cap oli essencial va inhibir la germinació de *C. album* al 100%. En aquesta espècie, els extractes aquosos mostraren majors efectes fitotòxics, sent l'extracte de *L. camara* el tractament més efectiu per al seu control. *C. canadensis* va ser la espècie més sensible als extractes aquosos.

El potencial herbicida dels extractes aquosos de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* i *C. ladanifer* es va assajar en hivernacle. Els tres primers, se van avaluar també en camp, sent *E. camaldulensis* i *E. africanus* els que mostraren major activitat. L'efecte dels extractes més actius en hivernacle, amb una sola aplicació, se va mantindre fins a sis setmanes, mentre que en camp, amb tres aplicacions distanciades quinze dies, l'efecte es va prolongar durant setze setmanes. Per altra banda, es va avaluar en hivernacle el potencial herbicida de dos dels olis essencials que resultaren més actius en les proves *in vitro* (*E. camaldulensis* i *E. africanus*), no mostrant activitat a la dosi assajada (0.5 µl/ml).

Els resultats obtinguts en les proves *in vitro*, indiquen que els extractes aquosos i olis essencials assajats mostren una activitat fitotòxica selectiva, depenent els seus efectes de la espècie sobre la que actuen, lo que els converteix en potencials herbicides selectius. No obstant, se deuen portar avant més proves, en condicions reals de cultiu, en hivernacle i camp, per a verificar el seu potencial. Els extractes aquosos van mantindre la seua activitat en les proves d'hivernacle però els olis essencials no mostraren l'efecte esperat degut a la seua alta volatilitat, sent necessari desenvolupar altre formules d'aplicació, com el microencapsulat, que facilitaria la seua manipulació, a més d'augmentar el seu efecte, al reduir la seua volatilització i ralentir la seua degradació al medi ambient.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	1
2.	ANTECEDENTES	17
2.1.	La alelopatía y el control de arvenses. Productos naturales como base para el desarrollo de nuevos herbicidas.	19
2.2.	Potencial herbicida de aceites esenciales.	21
2.3.	Estudios previos de las especies seleccionadas.....	23
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	49
3.1.	Material vegetal.	51
3.2.	Aceites esenciales procedentes de muestras comerciales y compuestos patrón utilizados....	52
3.3.	Obtención y rendimiento de aceites esenciales.	52
3.4.	Determinación de la composición de aceites esenciales.	53
3.5.	Obtención de extractos acuosos.	54
3.6.	Determinación de la composición de extractos acuosos.	55
3.7.	Ensayos de actividad fitotóxica <i>in vitro</i>	56
3.8.	Ensayos de actividad fitotóxica en invernadero.	58
3.9.	Ensayo de actividad herbicida en campo.	60
3.10.	Tratamiento y análisis estadístico de datos.	61
4.	RESULTADOS	63
4.1.	Composición de los aceites esenciales.....	65
4.2.	Composición de los extractos acuosos.....	85
4.3.	Actividad fitotóxica <i>in vitro</i> de los aceites esenciales.....	85
4.4.	Actividad fitotóxica <i>in vitro</i> de los extractos acuosos.....	109
4.5.	Actividad fitotóxica <i>in vitro</i> de compuestos patrón presentes en los aceites esenciales.....	116
4.6.	Reversibilidad de los efectos inhibitorios producidos por aceites esenciales y compuestos patrón <i>in vitro</i>	120
4.7.	Actividad fitotóxica de extractos acuosos y aceites esenciales en invernadero.....	121
4.8.	Actividad herbicida de extractos acuosos en campo.	125
5.	DISCUSIÓN.....	127
6.	CONCLUSIONES.....	145
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	149

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento medio de los aceites esenciales obtenidos.	53
Tabla 2. Composición del aceite esencial de <i>Lantana camara</i> L. (Valencia).	65
Tabla 3. Composición del aceite esencial de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh. (Valencia).	67
Tabla 4. Composición del aceite esencial de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh. (Sparacia, Sicilia). ..	68
Tabla 5. Composición del aceite esencial de <i>Eriocephalus africanus</i> L. (Valencia).	70
Tabla 6. Composición del aceite esencial de <i>Cistus ladanifer</i> L. (Sierra de Guadarrama, Madrid).	72
Tabla 7. Composición del aceite esencial de <i>Artemisia gallica</i> Willd. (Torreblanca, Castellón).	73
Tabla 8. Composición del aceite esencial de <i>Artemisia annua</i> L. (Sparacia, Sicilia).	75
Tabla 9. Composición del aceite esencial de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. (Sparacia, Sicilia).	76
Tabla 10. Composición del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Sparacia, Sicilia).	78
Tabla 11. Composición del aceite esencial de <i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns. et Link (Enna, Sicilia) en floración.	79
Tabla 12. Composición del aceite esencial de <i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns. et Link (Riesi, Sicilia) en estado vegetativo.	80
Tabla 13. Composición del aceite esencial de <i>Tagetes lemmonii</i> A. Gray (Bagheria, Sicilia).	81
Tabla 14. Composición del aceite esencial de <i>Pelargonium odoratissimum</i> (L.) L' Hér. (muestra comercial).	82
Tabla 15. Composición del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> L. (muestra comercial).	83
Tabla 16. Composición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (muestra comercial).	84
Tabla 17. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con aceite esencial de <i>L. camara</i>	86
Tabla 18. Efecto del aceite esencial de <i>L. camara</i> sobre la longitud de plántulas de <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	87
Tabla 19. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con aceite esencial de <i>E. camaldulensis</i> (Valencia).	88
Tabla 20. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>E. camaldulensis</i> (Sparacia, Sicilia).	89
Tabla 21. Efecto del aceite esencial de <i>E. camaldulensis</i> (Valencia) sobre la longitud de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	90
Tabla 22. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con aceite esencial de <i>E. africanus</i>	92
Tabla 23. Efecto del aceite esencial de <i>E. africanus</i> sobre la longitud de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	92
Tabla 24. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con aceite esencial de <i>C. ladanifer</i>	94
Tabla 25. Efecto del aceite esencial de <i>C. ladanifer</i> sobre la longitud de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	94

Tabla 26. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con aceite esencial de <i>A. gallica</i>	96
Tabla 27. Efecto del aceite esencial de <i>A. gallica</i> sobre la longitud de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	97
Tabla 28. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>A. annua</i>	98
Tabla 29. Efecto del aceite esencial de <i>A. annua</i> sobre la longitud de plántulas de <i>P. oleracea</i>	98
Tabla 30. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>L. angustifolia</i>	99
Tabla 31. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>R. officinalis</i>	100
Tabla 32. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>T. capitatus</i>	102
Tabla 33. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>T. lemmonii</i>	104
Tabla 34. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>P. odoratissimum</i>	105
Tabla 35. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>T. vulgaris</i>	106
Tabla 36. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceite esencial de <i>O. vulgare</i>	108
Tabla 37. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con extracto acuoso de <i>L. camara</i>	110
Tabla 38. Efecto del extracto acuoso de <i>L. camara</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	111
Tabla 39. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con extracto acuoso de <i>E. camaldulensis</i>	111
Tabla 40. Efecto del extracto acuoso de <i>E. camaldulensis</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	112
Tabla 41. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con extracto acuoso de <i>E. africanus</i>	113
Tabla 42. Efecto del extracto acuoso de <i>E. africanus</i> sobre la longitud de plántulas de <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	114
Tabla 43. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con extracto acuoso de <i>C. ladanifer</i>	115
Tabla 44. Efecto del extracto acuoso de <i>C. ladanifer</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	115
Tabla 45. Germinación de semillas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i> tratadas con extracto acuoso de <i>A. gallica</i>	116
Tabla 46. Efecto del extracto acuoso de <i>A. gallica</i> sobre la longitud de plántulas de <i>A. hybridus</i> , <i>P. oleracea</i> , <i>C. album</i> , <i>C. canadensis</i> y <i>P. judaica</i>	116
Tabla 47. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con eucaliptol.....	117

Tabla 48. Efecto del eucaliptol sobre la longitud de plántulas de <i>P. oleracea</i>	118
Tabla 49. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con carvacrol.....	118
Tabla 50. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con eugenol.	119
Tabla 51. Germinación de semillas de <i>P. oleracea</i> y <i>C. canadensis</i> tratadas con aceites esenciales y compuestos patrón transferidas a agua.	120
Tabla 52. Efecto de los extractos acuosos de <i>L. camara</i> , <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i> sobre la biomasa de arvenses en ensayo de invernadero.	121
Tabla 53. Efecto del extracto acuoso de <i>C. ladanifer</i> sobre la biomasa de arvenses en ensayo de invernadero.....	123
Tabla 54. Efecto de los aceites esenciales de <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i> sobre la biomasa de arvenses en ensayo de invernadero.....	123
Tabla 55. Efecto de los extractos acuosos de <i>L. camara</i> , <i>E.camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i> sobre la biomasa de arvenses en ensayo de campo.	126
Tabla 56. Máximo efecto inhibitorio sobre la germinación de arvenses producido por los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados.....	132
Tabla 57. Máximo efecto inhibitorio sobre el crecimiento de arvenses producido por los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados.....	132
Tabla 58. Contenido en monoterpenos y sesquiterpenos hidrocarbonados y oxigenados de los aceites esenciales ensayados.	137

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del aceite esencial de <i>L. camara</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> (A), <i>P. oleracea</i> (B) y <i>C. album</i> (C).....	86
Figura 2. Efecto del aceite esencial de <i>E. camaldulensis</i> (Valencia) sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. album</i>	90
Figura 3. Efecto del aceite esencial de <i>E. camaldulensis</i> (Sparacia, Palermo) sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	91
Figura 4. Efecto del aceite esencial de <i>E. africanus</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. album</i> (B).....	93
Figura 5. Efecto del aceite esencial de <i>C. ladanifer</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. album</i> (A) y <i>P. oleracea</i> (B).....	95
Figura 6. Efecto del aceite esencial de <i>A. gallica</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. album</i> (B).....	97
Figura 7. Efecto del aceite esencial de <i>A. annua</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. canadensis</i>	98
Figura 8. Efecto del aceite esencial de <i>L. angustifolia</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	99
Figura 9. Efecto del aceite esencial de <i>R. officinalis</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	101
Figura 10. Efecto del aceite esencial de <i>T. capitatus</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i>	102
Figura 11. Efecto del aceite esencial de <i>T. lemmonii</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	104
Figura 12. Efecto del aceite esencial de <i>P. odoratissimum</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	105
Figura 13. Efecto del aceite esencial de <i>T. vulgaris</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>C. canadensis</i> (A) y <i>P. oleracea</i> (B).....	107
Figura 14. Efecto del aceite esencial de <i>O. vulgare</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	108
Figura 15. Efecto del extracto acuoso de <i>L. camara</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> (A) y <i>C. album</i> (B).....	110
Figura 16. Efecto del extracto acuoso de <i>E. camaldulensis</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i> (A) y <i>P. oleracea</i> (B).....	112
Figura 17. Efecto del extracto acuoso de <i>E. africanus</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i>	114
Figura 18. Efecto del extracto acuoso de <i>C. ladanifer</i> sobre el crecimiento de plántulas de <i>A. hybridus</i>	115
Figura 19. Efecto del eucaliptol sobre el crecimiento de <i>C. canadensis</i>	118
Figura 20. Efecto del eugenol sobre el crecimiento de plántulas de <i>P. oleracea</i> (A) y <i>C. canadensis</i> (B).....	119
Figura 21. Valores medios de arvenses contabilizadas en bandejas control y tratadas con extractos acuosos de <i>L. camara</i> , <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i>	122

Figura 22. Temperatura y humedad relativa medias registradas en el invernadero durante la realización del ensayo de actividad herbicida de los extractos acuosos de <i>L. camara</i> , <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i>	122
Figura 23. Valores medios de arvenses contabilizadas en bandejas control, control con Tween y tratadas con aceites esenciales de <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i>	124
Figura 24. Temperatura y humedad relativa medias registradas en el invernadero durante la realización del ensayo de actividad herbicida del extracto acuoso de <i>C. ladanifer</i> y los aceites esenciales de <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i>	124
Figura 25. Valores medios de arvenses contabilizadas en cuadros control y tratados con extractos de <i>L. camara</i> , <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. africanus</i> en campo.	125

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La necesidad de obtener el máximo rendimiento de la tierra surge desde que las poblaciones nómadas de cazadores-recolectores se establecieron en comunidades más permanentes durante el Neolítico (Dayan *et al.*, 2009), aprendiendo a domesticar plantas y animales y dando origen a la agricultura. Este cambio trascendental otorgó a la humanidad el control sobre la obtención de alimentos, un paso decisivo en el control de la naturaleza (Childe, 1958). Desde que el hombre empezó a practicar cualquier forma de agricultura, los cultivos se han visto amenazados por los insectos, enfermedades y la competencia con arvenses (Freed, 1982). Durante miles de años, las prácticas agrícolas se basaron en la rotación de cultivos o en la siembra de cultivos mixtos para optimizar el control natural de las plagas (Dayan *et al.*, 2009). Se pueden distinguir cuatro periodos en la protección de cultivos (Zadoks, 1991): el primero, antes del siglo XVIII, caracterizado por la aceptación pasiva de las plagas en los cultivos, que eran inevitables y a veces incluso se consideraban un castigo de Dios. Se puede denominar este periodo como la prehistoria de la protección de cultivos porque no se llevaba a cabo una protección activa. Antes de la era industrial, los agricultores controlaban las plagas mediante el manejo de los ecosistemas agrícolas, arando, intercalando y rotando cultivos (Vasey, 1992). En el segundo periodo, entre los siglos XVIII y XIX, fue posible establecer medidas preventivas, pero una vez las plagas aparecían se consideraban todavía incontrolables. En el tercer periodo, gran parte del siglo XX, el control de plagas se basó en el uso de productos químicos. En la cuarta era de la protección de cultivos, desde finales del siglo XX hasta el presente, se reconoce que la lucha química contra las plagas ha tenido efectos no deseados sobre el medio ambiente. Esto ha provocado un triple cambio en la protección de cultivos (Rabbinge y Oijen, 1997): (1) el objetivo ya no es la erradicación de las plagas, sino mantenerlas en niveles deseados, (2) se desarrollan o mejoran otros medios de protección de cultivos no basados en productos químicos, como el control biológico y sistemas de rotación de cultivos y (3) la protección de cultivos se convierte en la búsqueda de la óptima combinación de diferentes medidas de control en vez de basarse sólo en el uso de productos químicos. En este periodo se ha desarrollado la protección integrada de cultivos.

Vivimos en un mundo globalizado, en el que la población crece continuamente, esperándose alcanzar, si seguimos al ritmo de crecimiento actual (30 millones de personas por año), los 9000 millones de habitantes en 2050 (UN, 2007). Los beneficios aportados por la agricultura han sido inmensos, la agricultura moderna alimenta a 6000 millones de personas (Tilman *et al.*, 2002). La producción global de cereales se ha duplicado en los últimos 40 años, principalmente gracias al aumento del rendimiento de las cosechas, resultado de la aplicación de fertilizantes y pesticidas, la adecuada irrigación, el cultivo de nuevas variedades mejoradas genéticamente y al uso de otras tecnologías de la denominada “Revolución Verde” (WHO, 1990; Tilman *et al.*, 2001). Maximizar la producción agrícola mundial depende enormemente del control de una gran variedad de plagas, especialmente las plantas

arvenses (Vyvyan, 2002), definidas como plantas que crecen en el lugar no deseado, compitiendo con el cultivo por los recursos, disminuyendo su rendimiento y contaminando la zona de cultivo con sus semillas, perpetuando el problema en las siguientes cosechas.

El control de arvenses se realiza principalmente a través de cuatro métodos: culturales, físicos y mecánicos, biológicos y químicos (Rhoads *et al.*, 1989). Los métodos culturales o ecológicos consisten en la modificación del ambiente donde crecen las arvenses de forma que el cultivo es reforzado o se disminuye la competencia de las arvenses con el cultivo. Incluye la rotación de cultivos, el uso de fertilizantes para favorecer al cultivo, la preparación de semilleros para trasplante, el manejo de dosis de siembra adecuadas, la irrigación y la preirrigación, y el uso de variedades de cultivo mejoradas, altamente adaptadas. Los métodos físicos y mecánicos incluyen toda acción física que se lleve a cabo para destruir las arvenses, como la escarda manual o con herramientas, segarlas o cortarlas, arar, enterrarlas o asfixiarlas. La inundación y la quema se incluyen en este tipo de métodos. El control biológico de las plantas arvenses se basa en el principio de que la mayoría de organismos tienen enemigos naturales que les pueden destruir. Se han empleado animales de pastoreo, parásitos, patógenos y virus de las arvenses contra ellas. El inconveniente de estos métodos es que el agente biológico se debe manejar selectivamente o el efecto del control será más perjudicial que el de la arvense. El control químico es el método más usado para combatir las arvenses.

Desde la Segunda Guerra Mundial se produjo un gran progreso en los productos químicos para usos en la agricultura. Durante los años 1940-1990, se desarrollaron gran número de productos químicos que ayudaron a optimizar los rendimientos de las cosechas. En lo que respecta a herbicidas, en 1946 se lanzó al mercado un compuesto clorado, el 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), primer herbicida sistémico o hormonal (Troyer, 2001), selectivo para el control de dicotiledóneas y al que siguió un amplio elenco de materias activas, como las triazinas y acetanilidas, que aún hoy están en uso.

El desarrollo de los herbicidas sintéticos puede ser dividido en diferentes periodos. Antes de 1945, el control de las plantas arvenses con herbicidas químicos se caracterizó por el uso de herbicidas inorgánicos y orgánicos que tenían baja actividad y ninguna selectividad, por ejemplo se utilizaban el sulfato de cobre o el dinitro-orto-cresol (DNOC). La idea básica en la investigación de los primeros herbicidas era rociar un grupo de plantas con un compuesto para controlar las hierbas sin dañar el cultivo. Este tipo de compuestos fueron llamados herbicidas de post-emergencia. La era moderna empieza a mitad de los años 40, con el descubrimiento de los herbicidas fenólicos (2,4-D), seguidos en los 30 años siguientes por las fenilureas sustituidas, las triazinas, el glifosato y otros. Estos herbicidas permitieron por primera vez controlar las plantas arvenses selectivamente en pre- y postemergencia, en cultivos sembrados (Macías, 1995). Con esta segunda generación de

compuestos se llegó a la conclusión de que diferentes puntos en la bioquímica de las plantas son susceptibles de explotación química (Baker *et al.*, 1987). Estas vías que son diferentes de otras formas de vida son los primeros objetivos de ataque en el diseño de nuevos agroquímicos (Hedin, 1985). El descubrimiento de los herbicidas sulfonilureas en los años 70 (Sauers y Levitt, 1984; Levitt, 1991) supuso el comienzo de la presente nueva era de los herbicidas químicos, caracterizada por el uso de herbicidas muy selectivos a dosis muy bajas (Macías, 1995). Se puede afirmar que la simple molécula del glifosato [N-(fosfometil) glicina] es el herbicida más importante de este periodo (Duke y Powles, 2008). Desde su introducción comercial en 1974, el glifosato se ha convertido en el herbicida dominante en todo el mundo. Son varias las razones de su éxito, entre ellas, que se trata de un herbicida altamente efectivo y de amplio espectro, sin embargo desde el punto de vista toxicológico y medio ambiental es seguro. El glifosato se transloca bien, y su acción es lo bastante lenta como para sacar ventaja de ello. Es el único herbicida que afecta la 5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), por ello no tiene competencia con herbicidas análogos. Desde que el glifosato se convirtió en un compuesto genérico, su coste se ha reducido drásticamente. Pero quizás el aspecto más importante de su éxito es la introducción de cultivos transgénicos, resistentes al glifosato en 1996. Casi el 90% de los cultivos transgénicos del mundo son resistentes al glifosato, y la adopción de estos cultivos está aumentando a ritmo constante. La técnica glifosato/cultivo resistente al glifosato para controlar las plantas arvenses es menos perjudicial para el ambiente que otras tecnologías a las que reemplaza, pero el uso de este herbicida “ideal” se está viendo amenazado por la evolución de plantas arvenses resistentes al glifosato (Duke y Powles, 2008).

En el mercado existen muchísimos herbicidas sintéticos, pero algunos de ellos tienen las mismas propiedades químicas y la misma actividad herbicida. Los herbicidas con una estructura química común se agrupan en “familias”. Éstas pueden tener diferentes modos de acción. El modo de acción hace referencia a la secuencia de eventos que se producen en la planta desde que el herbicida es absorbido hasta la muerte de la planta. Las diferentes familias de herbicidas se pueden agrupar en siete modos de acción principales (Gunsolus y Curran, 1999):

I. Reguladores del crecimiento. Incluye las familias de herbicidas ácidos fenoxiacéticos, ácidos benzoicos y piridinas. Pueden actuar en múltiples sitios en la planta. Alteran el balance hormonal y la síntesis de proteínas, por tanto interfieren muchos procesos biológicos y causan una gran variedad de anormalidades en el crecimiento de la planta. Son selectivos contra arvenses de hoja ancha, y sistémicos, moviéndose en la planta a través del floema o el xilema, siendo translocados a las zonas de nuevo crecimiento, lo que los hace muy efectivos. Se absorben principalmente a través del follaje, aunque también se pueden absorber por las raíces.

- **Ácidos fenoxiacéticos:** 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), MCPA (ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético).

- **Ácidos benzoicos:** dicamba.
- **Piridinas:** clopiralida, triclopir.

II. Inhibidores de la síntesis de aminoácidos. Incluye las familias de herbicidas imidazolinas, sulfonilureas, sulfonamidas, y derivados de aminoácidos. Actúan sobre una enzima específica para evitar la formación de determinados aminoácidos, claves para el crecimiento y desarrollo normal de la planta. Los herbicidas sulfonilureas, imidazolinas y sulfonamidas inhiben la enzima acetolactato sintasa (ALS), que interviene en la síntesis de tres aminoácidos esenciales imprescindibles para el desarrollo de las plantas: valina, leucina e isoleucina (Romero y Sorribas, 2007). Esta inhibición impide la síntesis de proteínas y como consecuencia interfiere en el crecimiento celular, originando la muerte de la planta (Sorribas *et al.*, 2006). Los inhibidores de la acetolactato sintasa son el grupo de herbicidas en el que se conocen más casos de resistencia en la actualidad (Osuna, 2002). Los herbicidas de estas familias pueden moverse a través del xilema y el floema hacia áreas de nuevo crecimiento y pueden absorberse por las hojas y raíces de la planta. Actúan tanto frente a arvenses de hoja ancha como de hoja estrecha, sean anuales o perennes.

- **Imidazolinas:** imazetabenz, imazetapir.
- **Sulfonilureas:** nicosulfuron, tribenuron.
- **Sulfonamidas:** penoxsulam, florasulam.
- **Herbicidas derivados de aminoácidos:** inhiben la producción de tres aminoácidos aromáticos esenciales inhibiendo otro enzima clave de la planta, la 5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS). Son herbicidas no selectivos y se absorben a través de las hojas. Se mueven a través del floema a todas partes de la planta. Son excelentes para el control de arvenses perennes, siendo igualmente activos frente a arvenses anuales. El glifosato es el herbicida representante de este grupo.

III. Inhibidores de la síntesis de lípidos. Incluye las familias de herbicidas ciclohexanodionas y ariloxifenoxipropionatos. Evitan la formación de ácidos grasos, componentes esenciales de los lípidos de la planta, mediante la inhibición de una enzima, la acetil-coenzima A carboxilasa, envuelta en la síntesis de los ácidos grasos. Los lípidos son vitales para la integridad de las membranas celulares y para el crecimiento de la planta. Las arvenses de hoja ancha son tolerantes a estos herbicidas, pero la mayoría de gramíneas, tanto anuales como perennes son susceptibles. Estos herbicidas son absorbidos por las hojas y se mueven a través del floema hacia áreas de nuevo crecimiento.

- **Ciclohexanodionas:** setoxidim, cletodim.
- **Ariloxifenoxipropionatos:** diclofop, fenoxaprop.

IV. Inhibidores del crecimiento de plántulas. Incluye las familias de herbicidas dinitroanilinas (inhibidores de la raíz), acetanilidas y tiocarbamatos (ambos inhibidores del tallo). Interfieren el crecimiento de la planta, reduciendo la capacidad de las semillas de desarrollarse normalmente. Estos herbicidas se aplican al suelo. Las plantas los absorben después de germinar la semilla, hasta que la plántula emerge del suelo. Son efectivos sólo frente a plántulas de arvenses, anuales o perennes. Las plántulas que emergen del suelo sin daño, ya no son afectadas. Estos herbicidas tienen dos sitios de acción principales: el tallo o la raíz en desarrollo. Se conoce mucho más sobre el modo de acción de los inhibidores de la raíz que de los inhibidores del tallo.

IV. A. Inhibidores de la raíz. Los inhibidores de la raíz impiden la división de las células, lo que inhibe la elongación del tallo y la formación de las raíces laterales o secundarias. La absorción se realiza a través de las raíces y tallos en desarrollo. El movimiento de estos herbicidas en la planta es limitado, por ello el daño está reducido a los tallos y raíces primarios.

- **Dinitroanilinas:** etalfluralina, pendimetalina, trifluralina.

IV. B. Inhibidores del tallo. Los herbicidas inhibidores del tallo son absorbidos por los tallos y raíces en desarrollo y pueden moverse a través del xilema a nuevas áreas de crecimiento, hay evidencias que sugieren que estos herbicidas pueden tener múltiples sitios de acción en la planta, principalmente afectando la síntesis de lípidos y proteínas.

- **Acetanilidas:** alacloro, acetocloro, metolacloro.
- **Tiocarbamatos:** EPTC (Eptam), trialato.

V. Inhibidores de la fotosíntesis. Incluye las familias de herbicidas triazinas, fenilureas y uracilos, (herbicidas móviles), benzotiadiazoles, nitrilos y piridazinas (herbicidas no móviles). Impiden la realización de la fotosíntesis en las plantas susceptibles uniéndose en sitios específicos de los cloroplastos. La inhibición de la fotosíntesis debería matar a la planta poco a poco debido a la falta de alimento, pero las plantas mueren rápidamente, se cree debido a la producción de sustancias secundarias tóxicas. Controlan arvenses de hoja ancha u hoja estrecha, anuales y perennes. Estos herbicidas no impiden la germinación de semillas, los daños en las plantas arvenses se producen una vez han emergido los cotiledones y las primeras hojas.

V. A. Herbicidas móviles. Las triazinas, fenilureas y uracilos son absorbidas por la planta a través de las raíces o las hojas y se mueven por el xilema hasta las hojas. Después de una aplicación foliar son menos móviles y no salen del tejido de la hoja.

- **Triazinas:** atrazina, simazina.
- **Fenilureas:** diuron, linuron, fluometuron.

- **Uracilos:** bromacilo, terbacilo.

V. B. Herbicidas no móviles. Los benzotriazolones, nitrilos y piridazinas son herbicidas no móviles en las plantas y son clasificados como herbicidas de contacto de postemergencia. No tienen actividad en el suelo. Deben cubrir el follaje de la planta para poder controlarla.

- **Benzotriazolones:** bentazona.
- **Nitrilos:** bromoxinil.
- **Piridazinas:** piridate.

VI. Disruptores de la membrana celular. Incluye las familias de herbicidas difeniléteres y bipyridilos. Son herbicidas de contacto en postemergencia, que con la luz solar se activan y forman compuestos oxigenados, como el peróxido de hidrógeno, que destruyen los tejidos de la planta al romper las membranas celulares, produciéndose necrosis de los tejidos. Son muy adecuados para quemar el follaje existente y para el control de arvenses anuales en postemergencia. Las arvenses perennes rebrotan porque estos herbicidas no se mueven hacia la raíz o el tallo. Tienen poca actividad en el suelo.

- **Difeniléteres:** aclonifen, fomesafen, lactofen.
- **Bipyridilos:** diquat, paraquat.

VII. Inhibidores de pigmentos. Incluye las familias de herbicidas isoxazolidinonas y piridazinonas. Su modo de acción es evitar que las plantas formen los pigmentos fotosintéticos. Las plantas tratadas se quedan blanquecinas, traslúcidas.

- **Isoxazolidinonas:** clomazona. Se aplica al suelo, es absorbido por las raíces y tallos y se mueve por el xilema hacia las hojas. Actúa por translocación y por contacto. Impide la síntesis de carotenoides.
- **Piridazinonas:** norflurazona. Se aplica al suelo, es absorbido por las raíces y se mueve hacia los puntos de crecimiento de las plantas susceptibles. Inhibe la síntesis de carotenoides a nivel de la fitoeno desaturasa (PDS).

Las prácticas agrícolas determinan la productividad de los cultivos pero también influyen en el estado global del medio ambiente (Tilman *et al.*, 2002). Además de causar la pérdida de los ecosistemas naturales, la agricultura añade al medio ambiente residuos perjudiciales de los productos químicos utilizados, que provocan graves impactos sobre los seres vivos. Las técnicas agrícolas actuales implican el mantenimiento de los ecosistemas en un estado ampliamente simplificado, alterado y rico en nutrientes (Tilman, 1999). Los factores limitantes, especialmente el agua, y el nitrógeno y fósforo minerales, son aportados en exceso (Vitousek *et al.*, 1997; Carpenter *et al.*, 1998) y las plagas (insectos, patógenos y arvenses) son activamente controladas con productos químicos.

La evolución de las interacciones entre los cultivos y sus patógenos implica que cualquier avance en la resistencia de un cultivo a un patógeno es transitoria (Tilman *et al.*, 2002). Los agroquímicos herbicidas, insecticidas, fungicidas y antibióticos son también importantes agentes selectivos. Entre una y dos décadas después de la introducción de cada uno de los siete principales herbicidas, se observó la aparición de estirpes de arvenses resistentes a ellos (Palumbi, 2001). La aparición de resistencias está vinculada a la aplicación repetida de herbicidas con el mismo modo de acción y sobre un mismo cultivo, lo que impone una selección de los individuos más resistentes dentro de las especies arvenses tratadas, que antes eran sensibles (Holt, 1992). Una solución a este problema es la alternancia de herbicidas con diferentes modos de acción, o el empleo de diferentes técnicas de control de arvenses, como la rotación de cultivos. El organismo “International Survey of Herbicide-Resistant Weeds”, cuyo propósito es la monitorización de las resistencias a herbicidas que aparecen en el mundo, informó en 1995 que había 183 biotipos de arvenses resistentes, de 124 especies diferentes, en 42 países (Heap, 1997). Actualmente, los datos recogidos por dicho organismo son 360 biotipos, de 197 especies diferentes (Heap, 2011).

El uso de cultivos transgénicos resistentes a herbicidas ha aumentado dramáticamente en la última década (Owen y Zelaya, 2005), principalmente soja, maíz, colza y algodón. Como resultado, se han simplificado los métodos para el control de arvenses, ya que se utiliza un único herbicida, el glifosato, a elevadas dosis y en repetidas ocasiones durante el cultivo, sin ocasionarle ningún daño. Algunos agricultores y economistas sugieren que el uso de cultivos resistentes a los herbicidas reduce el uso de éstos drásticamente, mientras otros afirman que el uso se incrementa (Benbrook, 2001; Phipps y Park, 2002; Champion *et al.*, 2003). A pesar de ello, el número de herbicidas distintos aplicados ha disminuido, empeorando las consecuencias ecológicas, ya que se reduce la biodiversidad de las tierras de cultivo, facilitando cambios en las poblaciones arvenses y la evolución de biotipos resistentes a los herbicidas (Watkinson *et al.*, 2000; Firbank y Forcella, 2000; Powles, 2003).

Los problemas más graves causados por el uso de los herbicidas sintéticos son los efectos negativos que pueden tener sobre el medio ambiente y la salud humana. Su integración en el ciclo de la descomposición natural de los compuestos orgánicos es en gran medida desconocido y problemático. En las primeras etapas del desarrollo de los productos agroquímicos no se pensó que pudieran tener otros efectos secundarios perjudiciales, fue a raíz de la detección de las primeras resistencias en los años 50, en moscas y mosquitos, y más tarde, no sólo en insectos que eran plagas agrícolas, sino también en otros transmisores de enfermedades humanas, como sucedió con el control de insectos en el cultivo de algodón en Centroamérica e India, que produjo la aparición de resistencias en los vectores de la malaria en 1960 (Chapin y Wasserstrom, 1981), cuando se hizo patente que el uso de los pesticidas

podía tener serios impactos nocivos. En un intento para solucionar el problema de las formas resistentes, se desarrollaron y lanzaron al mercado numerosos compuestos de distinta base química, organoclorados, organofosforados y carbamatos, siendo algunos de ellos mucho más tóxicos que el DDT (Freed *et al.*, 1982).

La toxicidad es la capacidad de una sustancia para producir daño en los seres vivos. Los efectos tóxicos producidos por los herbicidas pueden ser inmediatos (toxicidad aguda) o acumulativos (toxicidad crónica), dependiendo de la duración de la exposición, la dosis y el herbicida de que se trate (Hager y Refsell, 2008). Los riesgos para la salud de las personas que entran en contacto con productos pesticidas son diversos desde el punto de vista epidemiológico, dependiendo del tipo de exposición a que se vean sometidas (Davies, 1982): aguda (por envenenamiento), crónica ocupacional (por trabajar con estos productos a diario) o crónica incidental (por entrar en contacto con pesticidas accidentalmente, debido a residuos en el ambiente, en los alimentos ingeridos, o en las aguas para consumo humano). Estas exposiciones desencadenan efectos agudos y crónicos sobre la salud humana, incluyendo irritación en ojos y piel, quemaduras, neurotoxicidad aguda y crónica, problemas cardiopulmonares, metahemoglobinemia infantil, diversos tipos de cáncer, particularmente cánceres hematopoyéticos, alteraciones inmunológicas, y problemas de fertilidad y de desarrollo (Weisenburger, 1993).

En general, se cree que los herbicidas no son neurotóxicos en humanos (Ecobichon *et al.*, 1990). Aunque ha habido alguna controversia sobre la posible relación del paraquat, herbicida de contacto de amplio espectro, con la enfermedad de Parkinson, no hay evidencias epidemiológicas ni clínicas concluyentes de que el paraquat favorezca la aparición del Parkinson (Berry *et al.*, 2010). El uso del paraquat está prohibido en la Unión Europea desde el año 2007, pero se sigue empleando en muchas partes del mundo como EE.UU., Sudamérica, África y Australia. El paraquat provoca daños severos y progresivos en los pulmones, que pueden terminar causando anoxia, y muerte. El envenenamiento con paraquat también puede ocasionar fallo renal agudo debido a necrosis tubular y disfunción hepática (Blain, 1990). Otros daños sobre la salud humana atribuidos a los herbicidas (Kolpin *et al.*, 1998) son problemas reproductivos: un estudio en trabajadores expuestos a 2,4-D detectó menor número de espermatozoides, menor movilidad y viabilidad de éstos y una anormal morfología (Lerda y Rizzi, 1991), enfermedades genéticas (Carbonell *et al.*, 1995; Bain y LeBlanc 1996, Ribas *et al.*, 1997), envejecimiento y cáncer. En particular, se ha asociado la exposición a las triazinas con el cáncer de ovario (Donna *et al.*, 1989) y de pecho (Kettles *et al.*, 1997), mientras que el contacto con los productos herbicidas dicamba, mecoprop, glifosato y MCPA (ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético), ha sido relacionado con elevados riesgos de padecer linfoma no-Hodking (McDuffie *et al.*, 2001; Hardell *et al.*, 2002).

Debido a que no se pueden llevar a cabo ensayos aleatorios y controlados para evaluar los efectos sobre la salud humana de las sustancias químicas potencialmen-

te dañinas, añadiendo a ello, la dificultad de medir la exposición a los pesticidas, y las limitaciones de los estudios observacionales, todavía no se sabe con certeza el efecto de los pesticidas tradicionales sobre la salud humana, pero existen evidencias suficientes para recomendar a las personas disminuir el uso de éstos (Bassil *et al.*, 2007).

La exposición a pesticidas puede ocurrir por un gran número de vías, por ejemplo, a través de los alimentos ingeridos, el agua potable y el uso ocasional o profesional de los pesticidas, y a través de diversas rutas: oral, por inhalación y dérmica (Boobis *et al.*, 2008).

En los países desarrollados se han llevado a cabo importantes campañas de concienciación a los trabajadores que hacen uso de los pesticidas, sobre el manejo adecuado de estos productos y la necesidad del uso de equipos de protección, para minimizar los riesgos de la exposición a los mismos. En estos países, la utilización de productos fitosanitarios está debidamente legislada. En concreto en España, la Ley 43/2002 de 20 de noviembre, de Sanidad Vegetal, en su artículo 41.1.c. establece que quienes manipulen productos fitosanitarios deberán cumplir los requisitos de capacitación establecidos por la normativa vigente. La Orden PRE/2922/2005, de 19 de septiembre, establece los niveles de capacitación básico, cualificado, fumigador y niveles especiales, según la toxicidad de los productos que se vayan a manejar y el nivel de responsabilidad en la realización de los tratamientos. Además, la Ley 31/1995 de Prevención de Riesgos Laborales, establece que el empresario garantizará a los trabajadores a su servicio la vigilancia periódica de su estado de salud en función de los riesgos inherentes al trabajo. Existe un protocolo de especial vigilancia de la salud de las personas que trabajan con plaguicidas.

Pero no sólo los trabajadores que tienen contacto con pesticidas están expuestos a ellos, todas las personas podemos estarlo debido a la presencia de residuos de pesticidas en el ambiente, ya sea en el aire que respiramos, en el agua que utilizamos, o en los alimentos que ingerimos, incluso podemos sufrir envenenamientos agudos accidentales o crónicos. Es la totalidad de la exposición a los pesticidas la que determina el riesgo (FQPA, 1996), por tanto se debe considerar la exposición total en la evaluación de riesgos de los plaguicidas, teniendo en cuenta las diferentes fuentes de exposición y las múltiples vías de entrada (WHO, 2008).

La contribución de una determinada ruta o vía a la exposición global depende del plaguicida. En una evaluación de N-metilcarbamatos en EE.UU. se comprobó que predominaba la exposición vía los alimentos ingeridos, seguido de la exposición por uso ocasional, y el agua potable. En cambio, para organofosforados predominaba la exposición debido al uso ocasional, mientras que para las triazinas era el agua potable la principal vía de exposición (Boobis *et al.*, 2008).

Por lo general los herbicidas son moderadamente solubles en agua y tienen coeficientes relativamente bajos de adsorción en suelo. Debido a estas propiedades, pueden contaminar el ambiente mediante la escorrentía agrícola o la lixiviación (Ren *et al.*, 2010). Numerosas investigaciones confirman la incidencia (Holden *et al.*, 1992; Walls *et al.*, 1996), destino (Bintein y Devillers, 1996; Kruger *et al.*, 1997) y efectos de los herbicidas sobre el medio ambiente, incluyendo impacto en las comunidades de vegetación autóctona (Tomkins y Grant, 1977; Marrs *et al.*, 1991; Marrs y Frost, 1997; Riemens *et al.*, 2009), y en las comunidades acuáticas (Spawn *et al.*, 1997; Kotrikla *et al.*, 1999; Relyea, 2005), disminución de las poblaciones de mariposas (Longley y Sotherton, 1997) y aumento de las deformidades en ranas (Barinaga, 1990; Blaustein y Wake, 1990).

Los herbicidas también afectan a los microorganismos del suelo. Se ha determinado que el número de sustituyentes determina sus efectos tóxicos. La capacidad de captar electrones de los sustituyentes influye significativamente en la actividad biológica de los herbicidas, siendo importantes las interacciones electrostáticas entre las moléculas de herbicida y los microorganismos (Nemes-Kósa y Cserhádi, 1995).

La mayoría de estudios sobre el impacto de los herbicidas primeramente se centraron en sus ingredientes activos, ya que estudiar los productos de degradación era complicado debido a la falta de métodos analíticos o a su elevado coste, pero es muy importante prestar atención a sus degradados, ya que muchos de ellos son igual de tóxicos o más que sus compuestos parentales (Kolpin *et al.*, 1998). Además, los procesos bióticos y abióticos del suelo pueden transformar los herbicidas, en consecuencia, la inclusión de los metabolitos es crucial para la comprensión del destino de los herbicidas en las aguas subterráneas (Juhler *et al.*, 2001).

Uno de los peores efectos que puede causar el uso de los herbicidas sintéticos sobre el medio ambiente es la contaminación del subsuelo, con la consecuente contaminación de las fuentes de agua domésticas (Juhler *et al.*, 2001). Desde este punto de vista, la protección de las aguas subterráneas (los acuíferos y sus derivaciones para uso doméstico), es un tema fundamental tratado en la Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre, que establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas, y por ello se desarrolla más tarde la Directiva 2006/118/CE, de 12 de diciembre, de protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. Entre las principales preocupaciones se encuentra la posible contaminación de los recursos con xenobióticos como los pesticidas. Muchos esfuerzos se están dirigiendo a la caracterización de la contaminación potencial causada por lixiviados de compuestos activos de los pesticidas y sus productos de transformación (Juhler *et al.*, 2008).

En la Unión Europea, los requisitos y procedimientos de autorización de los productos fitosanitarios están regulados, con objeto de proteger la salud humana y

el medio ambiente, a través de la Directiva 91/414/CEE del Consejo, de 15 de julio, relativa a la comercialización de productos fitosanitarios, que establece una lista de sustancias autorizadas y un programa escalonado de evaluación de las sustancias ya comercializadas. Esta Directiva establece normas uniformes de evaluación, autorización, comercialización y control de productos fitosanitarios dentro de la Unión Europea. Únicamente están autorizados los productos cuyas sustancias activas figuren en el anexo I de la Directiva, que utilizados en condiciones normales no presentan riesgos para la salud humana o animal ni para el medio ambiente. Las sustancias de la lista comunitaria deben revisarse periódicamente, teniendo en cuenta los avances de la ciencia y la tecnología, y los estudios de impacto relativos a la utilización efectiva de los productos fitosanitarios que contengan dichas sustancias. La presente Directiva quedará derogada a partir del 14 de junio de 2011 por el Reglamento (CE) n° 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de octubre, relativo a la comercialización de productos fitosanitarios.

Con el fin de proteger la salud humana y animal, el Reglamento (CE) n° 396/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de febrero, que modifica la Directiva 91/414/CEE del Consejo, fija las cantidades máximas autorizadas de residuos de plaguicidas que pueden encontrarse en los productos de origen animal o vegetal destinados al consumo humano o animal en la Unión Europea.

En los países desarrollados está muy regulado el uso de productos fitosanitarios, y existen organismos encargados de controlar su uso y sus residuos, para proteger la salud de las personas y los animales, y preservar el medio ambiente, pero la situación es muy distinta en los países en vías de desarrollo. La Organización Mundial de la Salud clasifica los efectos tóxicos de los pesticidas en diferentes clases, desde la Ia (extremadamente peligroso) a la III (ligeramente peligroso) y por último U (materias activas improbables de causar peligro agudo) (WHO, 2010). La mayoría de productos incluidos en la clase I están prohibidos o estrictamente controlados en el regulado mundo industrializado, pero no en los países en desarrollo, donde muchas veces los pesticidas de clase I están libremente disponibles en lugares donde no existen recursos para un uso adecuado de los mismos (Bull, 1982).

En ningún lugar, actualmente, los pesticidas son más valorados que en los países en desarrollo, particularmente en aquellos de regiones tropicales, que intentan entrar en la economía global suministrando frutas y verduras fuera de temporada a los países de climas templados. Esas naciones en desarrollo se están convirtiendo en las “cestas del pan” del mundo, siendo capaces de producir 2 ó 3 cosechas al año (Ecobichon, 2001). Para conseguir estos objetivos, ha aumentado la dependencia de los productos fitosanitarios. Algunos productos químicos antiguos, no patentados, más tóxicos, persistentes en el ambiente y poco costosos, se están usando en las naciones en desarrollo: las importaciones de bromuro de metilo aumentaron en Centroamérica, mientras el producto se iba retirando de los países industrializados,

(Wesseling *et al.*, 2003), creando serios y agudos problemas de salud y contaminación local y global del medio ambiente.

En estos países está creciendo la preocupación en la opinión pública por el hecho de que nadie es consciente de la extensión de la contaminación por residuos pesticidas a los productos frescos locales que se compran cada día, ni de los potenciales efectos a largo plazo sobre la salud de los consumidores. Pocas naciones en desarrollo han expresado una clara filosofía en relación a los plaguicidas, faltando una legislación rigurosa y reglamentos para controlarlos. Se deben desarrollar programas de capacitación para el personal encargado de realizar las inspecciones y monitorizar el uso de plaguicidas, así como para los usuarios (Ecobichon, 2001).

Cualesquiera que sean los futuros avances en tecnología agrícola, es probable que la mayoría de la producción de alimentos continúe dependiendo de un medio ambiente fértil. A veces, desafortunadamente, el mayor enemigo de los agricultores no es el natural cambio climático, sino las consecuencias ecológicas de sus propias y de otras actividades humanas (Graber *et al.*, 1995). Existe amplia evidencia que sugiere que el colapso de algunas civilizaciones fue acelerado o causado por la degradación del medio ambiente (Ponting, 1991). El aumento de la población y del desarrollo urbanístico ha potenciado claramente esta capacidad, y también los métodos agrícolas empleados en el siglo XX. Los procesos y actividades agrícolas afectan y son afectados por los ecosistemas ambientales locales y globales (Graber *et al.*, 1995).

Debido a todos los efectos perjudiciales que se han ido constatando en los plaguicidas relacionados con la salud de las personas, los animales y el medio ambiente, la sociedad está tomando conciencia de que se deben emplear técnicas, que además de ser efectivas, sean respetuosas con el medio ambiente y propicias al desarrollo de una agricultura sostenible. El interés por la sostenibilidad aumentó después de que el término “desarrollo sostenible” fuera acuñado en 1987, en el informe “Nuestro Futuro Común”, publicado por las Naciones Unidas y la Comisión Mundial sobre Medio Ambiente y Desarrollo (Constance, 2010). La legislación en los países desarrollados cada vez es más severa con las sustancias químicas sintéticas que pueden presentar efectos tóxicos para las personas y el ambiente, por tanto se deben buscar nuevos compuestos que no tengan efectos perjudiciales. Los nuevos compuestos deben ser “amigos del medio ambiente” (Evans, 1999). Se están desarrollando nuevas tecnologías que, combinadas con prácticas culturales tradicionales, permitan controlar las plantas arvenses (Macías, 1995) basadas en los productos naturales (Putnam, 1983; Dayan *et al.*, 1999a) como alternativa a los herbicidas químicos sintéticos.

Las plantas tienen sus propios mecanismos de defensa, no solo frente a depredadores herbívoros sino también frente a otras especies vegetales, en la lucha por la colonización del espacio y el aprovechamiento de los recursos ecológicos. La ale-

lopatía se define como cualquier efecto directo o indirecto (estimulador o inhibitorio) de una planta (incluyendo microorganismos) sobre otra, mediante la liberación de compuestos químicos (aleloquímicos) al medio ambiente (Rice, 1984). Los aleloquímicos pueden ser liberados al ambiente por numerosos mecanismos: volatilización de las hojas, exudación de las raíces y lixiviación de las hojas y desechos vegetales en el suelo por la precipitación (Putnam, 1983). Los aleloquímicos que suprimen o eliminan plantas competentes cerca de la planta fuente han recibido especial atención debido a su potencial como herbicidas naturales selectivos (Stonard y Miller-Wideman, 1995; Benner, 1996; Duke *et al.*, 2000a). El uso de productos naturales como reservorio de compuestos bioactivos ha sido muy explotado en medicina, siendo el descubrimiento y el uso de antibióticos un ejemplo de ello. El enfoque etnobotánico, centrándose en el estudio de plantas tradicionalmente usadas con fines medicinales en todo el mundo, evidencia la importancia de la naturaleza como fuente de nuevas drogas. Este punto de vista ha sido considerado sólo recientemente en los estudios agronómicos (Macías *et al.*, 2004).

Las estrategias para descubrir aleloquímicos son análogas a las que se emplean en la industria farmacéutica para descubrir “lead compounds” o “compuestos cabeza de serie”, y conllevan la investigación de la actividad biológica de extractos brutos y de compuestos purificados. Se debe tener precaución en los métodos de obtención de los extractos de plantas que se usan en los bioensayos alelopáticos. Algunos investigadores prefieren inicialmente la extracción acuosa del material vegetal porque afirman que la interferencia alelopática es más probable debido a compuestos solubles en agua que son introducidos en el medio ambiente, aunque ello no es estrictamente necesario, ya que los aleloquímicos pueden ser introducidos por volatilización, exudación, y por descomposición de material vegetal (Vyvyan, 2002).

Evidencias de interacciones alelopáticas en la naturaleza causadas por plantas que contienen aleloquímicos volátiles han sido descritas frecuentemente (Sigmund, 1924; Went, 1942; Bonner, 1950; Asplund, 1968; Chou, 1986 y 1989; Muller, 1986; Reynolds, 1987; Dudai *et al.*, 1999). La mayoría de los inhibidores de la germinación y el crecimiento producidos por las angiospermas perennes identificados por Rice (1984) son compuestos fenólicos o derivados del ácido cinámico. Otros autores además encontraron cumarinas, flavonoides, alcaloides, cianoglucósidos, proteínas y aminoácidos entre los compuestos inhibitorios (Friedman y Waller, 1983; Putnam, 1985; Waller, 1989). A esta lista se deben añadir los terpenoides, incluyendo los terpenos volátiles que son los principales componentes de los aceites esenciales (Fischer, 1986; Muller, 1986; Elakovich, 1988).

El objetivo principal de esta tesis doctoral es el ensayo de la actividad fitotóxica de diferentes aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas sobre la germinación y el crecimiento de arvenses, con el fin de seleccionar los más activos, para desarrollarlos en un futuro como herbicidas naturales.

Para lograr el objetivo final, se detallan los siguientes objetivos parciales:

1. Selección de especies mediterráneas productoras de aceites esenciales para el estudio de su potencial fitotóxico, en base a bibliografía existente sobre actividad biológica de sus metabolitos secundarios o de los de otras especies taxonómicamente cercanas a ellas.
2. Selección de especies arvenses problemáticas sobre las que se estudia el potencial herbicida de los aceites esenciales y extractos acuosos.
3. Determinación de la composición química de los aceites esenciales obtenidos.
4. Análisis de los extractos acuosos obtenidos.
5. Realización de ensayos de inhibición de la germinación y el crecimiento de arvenses *in vitro*, para evaluar el potencial herbicida de los aceites esenciales y extractos acuosos obtenidos.
6. Realización de ensayos de invernadero con los aceites esenciales y extractos acuosos que mayor potencial herbicida hayan mostrado *in vitro*.
7. Realización de pruebas preliminares de campo con los aceites esenciales y extractos acuosos que mayor potencial herbicida hayan mostrado *in vitro*.

2. ANTECEDENTES

2.1. La alelopatía y el control de arvenses. Productos naturales como base para el desarrollo de nuevos herbicidas.

La alelopatía ha sido propuesta como una alternativa a las estrategias de control de las plantas arvenses (Altieri, 1988; Einhelling y Leather, 1988; Worsham, 1989). El carácter multidisciplinar de esta ciencia, donde ecologistas, edafólogos, ingenieros agrónomos, químicos, bioquímicos y fisiólogos vegetales desempeñan un importante papel, puede ofrecer métodos adicionales para controlar las plantas arvenses (Newman, 1982; Einhelling y Leather, 1988; Putnam, 1988; Worsham, 1989) mediante el desarrollo de nuevas técnicas que impliquen el uso de la alelopatía (Macías, 1995), como son:

- El uso de aleloquímicos naturales o modificados como herbicidas.
- La transferencia genética de propiedades alelopáticas a los cultivares comerciales de cultivos.
- La utilización de plantas alelopáticas en rotación de cultivos, como plantas acompañantes o como abono verde.
- El uso de “mulchings” fitotóxicos y el manejo de cubiertas vegetales para suprimir las plantas arvenses, especialmente en los sistemas de producción de cultivos de conservación y no laboreo.

Durante muchos años, la investigación en alelopatía fue llevada a cabo por botánicos, y se centró en el estudio de los efectos de los cultivos de cobertura alelopáticos, el intercalado de cultivos alelopáticos, y la aplicación de extractos de plantas sobre el rendimiento de las cosechas y la eliminación de arvenses en condiciones de campo (Molisch, 1937; Putnam y Tang, 1986; Weston, 1996; Kocacalisikan y Terzi, 2001; Vyvyan, 2002). Aunque estos trabajos continúan, ha habido una reciente expansión en la investigación de los productos naturales responsables de estos efectos (Einhelling, 1995; Vyvyan, 2002).

Los productos naturales son una atractiva fuente potencial de obtención de nuevos herbicidas, no sólo por la gran diversidad y lo novedoso de sus fórmulas, sino también por la potencial especificidad de su acción biológica, y por la reducida probabilidad de producir acumulaciones dañinas y residuos perjudiciales en aguas y suelos (Macías, 1995). Uno de los importantes beneficios de la composición química y de las características estructurales de los productos naturales, como son la ausencia de “antinaturales” estructuras de anillo y la baja cantidad de átomos pesados, es que la mayoría de estos compuestos son rápidamente degradados en el medio ambiente (Dayan *et al.*, 1999a), por lo que tienen un bajo o nulo impacto. Además, las fitotoxinas naturales suelen actuar en puntos distintos a los de los herbicidas convencionales (Dayan *et al.*, 1999a; Duke *et al.*, 2000a), presentando numerosos y diferentes modos de acción, lo que evita la aparición de resistencias.

Es importante señalar que no todos los compuestos fitotóxicos aislados de una planta son alelopáticos, algunos pueden ejercer otros roles internos o defensivos. El análisis químico de los compuestos debe estar estrechamente conectado con apro-

piados estudios ecológicos en campo y ensayos *in vitro*, que apoyen el rol alelopático de dichos compuestos. Hasta la fecha, han sido caracterizados diversos aleloquímicos con diferentes estructuras químicas y sus propiedades fitotóxicas y biológicas han sido estudiadas (Macías *et al.*, 2007). La primera clasificación establecida, los divide en 14 grupos, de acuerdo con su origen biosintético (Rice, 1984). Básicamente, esta clasificación permanece, siendo sus principales grupos (Macías *et al.*, 2007):

1. **Compuestos fenólicos.** Constituyen un amplio grupo de aleloquímicos, con estructuras químicas de diferente complejidad. Se incluyen **fenoles simples** (ácidos fenólicos, como el ácido benzoico) y **fenilpropanoides** (ácido cinámico), que se encuentran entre los compuestos alelopáticos más comúnmente citados, **quinonas** (juglona y sorgolenona), **flavonoides** (kaempferol y quercetina), y **metabolitos de líquenes** (ácido úsnico y derivados).

2. **Terpenoides.** Son metabolitos secundarios presentes en muchos organismos, cuya actividad alelopática ha hecho que sean considerados como fuente de desarrollo de agroquímicos basados en productos naturales (Duke *et al.*, 2002; Vyvyan, 2002; Einhelling, 2004). Este grupo de compuestos incluye:

Monoterpenoides. Son compuestos volátiles, principales constituyentes de los aceites esenciales. Se han descrito como responsables de interacciones alelopáticas en algunas comunidades de plantas, especialmente en plantas aromáticas de zonas áridas o semiáridas (Williamson *et al.*, 1989; Angelini *et al.*, 2003). Se ha verificado la capacidad de inhibir la germinación de algunos monoterpenos, como el alcanfor, los pinenos y cineoles, tanto solos (Vokou *et al.*, 2003), como formando parte de aceites esenciales (Angelini *et al.*, 2003).

Lactonas sesquiterpénicas. Poseen gran variedad de actividades biológicas, entre ellas, insecticida (Datta y Saxena, 2001), antibacteriana (Saroglou *et al.*, 2005), antifúngica (Ahmed y Abdelgaleil, 2005) y alelopática (Pandey *et al.*, 1993; Macías *et al.*, 1999), en cualquier caso, con un alto grado de actividad (Macías *et al.*, 2000; Batish *et al.*, 2001). Abundan especialmente en la familia Compuestas (Fraga, 2005). Algunas de las arvenses más problemáticas contienen lactonas sesquiterpénicas alelopáticas, y su potencial invasor puede ser directamente relacionado con su contenido. La bioactividad mostrada por estos compuestos hace posible considerarlos para el desarrollo de nuevos productos herbicidas (Macías *et al.*, 2007). Otra ventaja es que pueden aportar nuevos modos de acción, ya que son efectivas en el control de biotipos resistentes de algunas arvenses (Galindo *et al.*, 2000).

Diterpenos. Los diterpenos no siempre se han comportado como agentes alelopáticos, su rol ecológico ha sido más asociado con actividad insecticida, antialimentaria y disuasoria. Las giberelinas, diterpenos derivados del *ent*-kaureno, actúan como importantes hormonas en la planta, interviniendo en la regulación del crecimiento (Macías *et al.*, 2007). Las momilactonas son diterpenos aislados de la

cáscara de arroz (Kato *et al.*, 1977).y de los exudados de sus raíces, que inhiben el crecimiento de plantas vecinas (Kato-Noguchi, 2004).

Quassionides. Son triterpenos presentes en la familia Simaroubáceas (Polonsky, 1983), que comprende, entre otras, especies como *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, del que se aisló el primer quassionoide alelopático, la ailantona (Heisey, 1996). Tienen un amplio espectro de actividades farmacológicas: antitumorales (Lee, 1999), antileucémicas (Itokawa *et al.*, 1992) y antimaláricas (O'Neill *et al.*, 1985) entre otras. Por otra parte, ha crecido el interés sobre su potencial aplicación en agricultura como insecticidas (Lidert *et al.*, 1987), fungicidas (Hoffmann *et al.*, 1992) y herbicidas (Lin *et al.*, 1995; Dayan *et al.*, 1999b).

3. Benzoxacinoides. Los ácidos hidroxámicos están entre los últimos aleloquímicos aislados de plantas con potencial uso en agricultura para el control de arvenses (Macías *et al.*, 2007). Son benzoxacinas producidas por diferentes especies de la familia Gramíneas, en las que tienen un rol protector (Niemeyer y Pérez, 1995), habiendo mostrado actividad antifúngica (Hofman y Hofmanová, 1971), antimicrobiana (Bravo y Lazo, 1993), insecticida (Argandoña *et al.*, 1980) y fitotóxica (Macías *et al.*, 2005). También se encuentran en especies de las familias Acantháceas (Kanchanapoom *et al.*, 2001), Ranunculáceas (Özden *et al.*, 1992) y Escrofulariáceas (Chen y Chen, 1976). Se almacenan en la planta en forma de glucósidos inactivos para evitar la autotoxicidad (Sicker *et al.*, 2004). Su uso como base para el desarrollo de agroquímicos está siendo cuestionado debido a diversos factores relacionados con su seguridad para la salud humana y su estabilidad en suelo. El grupo arilhidroxámico es mutagénico y los 1,4-benzoxacinoides aislados de cereales presentan actividad mutagénica (Hashimoto *et al.*, 1979).

4. Glucosinolatos. Son un grupo de compuestos de defensa que se encuentran en plantas de las familias Brassicáceas, Resedáceas y Capparidáceas (Fahey *et al.*, 2001). Son compuestos no tóxicos que al desgarrarse los tejidos son degradados enzimáticamente por β -tioglucosidasas (mirosinasas) a compuestos activos como nitrilos, isotiocianatos, oxazolidinetionas y sales tiocianáticas (Rask *et al.*, 2000; Oleszek, 1987). Desempeñan roles defensivos contra insectos y microorganismos, y también tienen una función atrayente sobre algunas especies de lepidópteros (Wittstock y Halkier, 2002). Su actividad alelopática ha sido descrita en diferentes casos (Yamane *et al.*, 1992a y b; Lazzeri y Manici, 2001). Se ha propuesto el uso de tejidos conteniendo glucosinolatos como bioherbicidas (Brown y Morra, 1995), pero su alta volatilidad provoca su rápida desaparición de los suelos (Borek *et al.*, 1995), lo cual siendo positivo para el medio ambiente, constituye un inconveniente, ya que los compuestos no duran el tiempo suficiente para ejercer la acción herbicida (Macías *et al.*, 2007).

2.2. Potencial herbicida de aceites esenciales.

Los aceites esenciales se obtienen fundamentalmente de las partes no leñosas de la planta, en especial de las hojas, mediante arrastre por vapor de agua o hidro-

destilación (Batish *et al.*, 2008). Son una compleja mezcla, principalmente de terpenoides, en particular monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15), y una variedad de compuestos aromáticos, óxidos, éteres, alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas, que determinan el característico aroma y olor de la planta que lo produce (Batish *et al.*, 2008). La presencia de monoterpenos volátiles o de aceites esenciales en las plantas es una importante estrategia de defensa, especialmente contra herbívoros, insectos perjudiciales u hongos patógenos (Langenheim, 1994). Los terpenoides volátiles también juegan un importante rol en las interacciones planta-planta y actúan como atrayente de los insectos polinizadores (Tholl, 2006).

Los aceites esenciales han mostrado potencial como herbicidas. Uno de los inconvenientes que presentan es que normalmente es necesario el empleo de surfactantes para su aplicación, y éstos están limitados en la agricultura orgánica. La mayoría de aceites esenciales comercializados para el control natural de arvenses son mezclas, por lo que es difícil recopilar las numerosas formulaciones disponibles. Todos los aceites esenciales comercializados actúan como herbicidas de contacto no selectivos, que pueden controlar las arvenses de forma adecuada pero transitoria. El uso de los aceites esenciales para el control de arvenses parece prometedor en la agricultura orgánica, pero actúan muy rápido y su actividad es limitada porque la mayoría se volatilizan rápidamente (Dayan *et al.*, 2009). Se están desarrollando formulaciones alternativas, como la microencapsulación, para aumentar la duración de su efecto, reducir su volatilización, simplificar su manejo y ralentizar su degradación en el medio ambiente (Scarfato *et al.*, 2007).

Algunos aceites esenciales o compuestos que forman parte de ellos comúnmente utilizados en diferentes formulaciones herbicidas son (Dayan *et al.*, 2009):

- Aceite de pino. Compuesto por alcoholes terpénicos y ácidos grasos. Su aplicación no consigue el nivel de control de arvenses que logra una única aplicación de glifosato (Young, 2004).

- Aceite de clavo. Obtenido por destilación en corriente de vapor de hojas de *Eugenia caryophyllus* (Spreng) Bullock & S. G. Harrison, contiene principalmente eugenol, junto con otros terpenoides (Dayan *et al.*, 2009). Aplicado a concentraciones del 1-5% controla la mayoría de pequeñas arvenses (Tworkoski, 2002), pero la alta tasa que se requiere hace que este tratamiento sea caro, incluso en sistemas de producción de vegetales de alto valor.

- 2-fenilpropionato. Es un compuesto del aceite esencial de *Mentha piperita* L., que también es rico en mentol y mentona (Bouverat-Bernier, 1992). Este compuesto ha sido patentado como herbicida y puede ser encontrado como componente de distintas formulaciones de herbicidas naturales. Es seguro para el medio ambiente y la salud humana (Dayan *et al.*, 2009).

- Aceite de hierba limón (*Cymbopogon citratus* Stapf.). Se ha comercializado recientemente para su uso como herbicida orgánico, pero su potencial uso como herbicida se patentó por primera vez en Inglaterra en 1924. Su principal componen-

te (80%) es el citral (Zamureenko *et al.*, 1981). Este aceite actúa como herbicida de contacto, y como el citral no se transloca, sólo las partes de la planta tratadas con la solución se ven afectadas (Dayan *et al.*, 2009).

- Aceite de citronela. Se obtiene de diversas fuentes, pero la más utilizada es *Cymbopogon* spp. Sus principales componentes son citronelal (42%), geraniol (21%) y otros terpenos. Es más conocido por su uso como repelente de mosquitos. Ha sido probado como herbicida en viveros de árboles (Clay *et al.*, 2005): controló las arvenses sin causar efectos adversos en árboles de hoja ancha en estado latente, siendo las coníferas muy sensibles a este tratamiento.

- Otros aceites esenciales. Muchos otros aceites esenciales han mostrado potencial como herbicidas naturales, pero aún no se han comercializado, como el aceite de Eucalyptus, extraído de *Eucalyptus citriodora* Hook., que contiene principalmente citronelal (77%) y otros terpenos (Mondello *et al.*, 1998). Se ha comprobado su efectividad como método alternativo de control de *Phalaris minor* Retz (Batish *et al.*, 2007).

Se probaron diversos aceites esenciales contra *Orobancha cernua* Loeffl en cultivo de tabaco infestado en India. Los aceites naturales de *Azadirachta indica* Juss., *Cocos nucifera* L. y *Helianthus annuus* L. la controlaron entre 2-3 días desde su aplicación. Los de *Ricinus communis* L. y *Guizotia abyssinica* (L. fil.) Cass. mataron la arvense entre 3-4 días y el de *Brassica juncea* (L.) Czernjaew requería 5 días para matar las yemas (Dhanapal *et al.*, 1998).

Aceites esenciales de diversas variedades de orégano (*Origanum* spp.) y albahaca (*Ocimum basilicum* L.) se han ensayado contra *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) y *Chenopodium album* L. con algún éxito (Vasilakoglu *et al.*, 2007). Estos aceites, compuestos principalmente de *p*-cimeno (20-25%), γ -terpineno (15-20%) y timol (10-35%), han sido patentados para el control de musgos (Dayan *et al.*, 2009).

El aceite de hojas de *Leptospermum scoparium* Forst. está compuesto por más de un 70% de sesquiterpenos (Christoph *et al.*, 1999) y es rico en β -tricetonas (Hellyer, 1968; Douglas *et al.*, 2004). La leptospermona, tricetona más abundante de este aceite, provoca el blanqueo de las hojas de arvenses tanto de hoja ancha como de hoja estrecha (Knudsen *et al.*, 2000). Las tricetonas naturales tienen una estructura similar a algunos herbicidas sintéticos, como sulcotrione y mesotrione, y actúan sobre la *p*-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (Lee *et al.*, 1997; Dayan *et al.*, 2007).

2.3. Estudios previos de las especies seleccionadas.

2.3.1. Plantas fuente de obtención de aceites esenciales y extractos acuosos.

2.3.1.1. *Lantana camara* L.

L. camara es una planta leñosa, perteneciente a la familia Verbenáceas, nativa de América tropical y subtropical (Guisalberti, 2000). Muestra un crecimiento exu-

berante en regiones tropicales, subtropicales y templadas (Sharma *et al.*, 1988). Se cultiva en todo el mundo como ornamental, pero es una planta agresiva, que ha invadido vastas extensiones de pastos, huertos y bosques en diferentes regiones tropicales y subtropicales (Guisalberti, 2000), por ello ha sido considerada una de las 10 peores arvenses (Sharma *et al.*, 1988, Oudhia, 2001) y una de las 100 especies más invasivas del mundo (Fan *et al.*, 2010; IUCN, 2011).

Se ha observado que las invasiones de *L. camara* interrumpen los procesos de regeneración de las especies vecinas, mediante efectos alelopáticos, en Australia. (Gentle y Duggin, 1997). *L. camara* afecta a las otras especies liberando gran variedad de aleloquímicos, tanto volátiles como no volátiles, de sus tejidos, residuos y aceites esenciales (Arora y Kohli, 1993; Ambika *et al.*, 2003).

Produce diferentes metabolitos secundarios que han mostrado poseer útiles actividades biológicas (Guisalberti, 2000). Ha sido muy utilizada en la medicina tradicional en diferentes partes del mundo, para tratar una gran variedad de enfermedades (Ross, 1999). Se ha descrito su aplicación como vulneraria (Kirtikar y Basu, 1935; Chopra *et al.*, 1956; CSIR, 1962 y 1992), diaforética, carminativa (Kirtikar y Basu, 1935; Chopra *et al.*, 1956; CSIR, 1962 y 1992; Agarwal, 1997), antiséptica (Chopra *et al.*, 1956; CSIR, 1962 y 1992; Agarwal, 1997), antiespasmódica (Kirtikar y Basu, 1935; CSIR, 1992; Agarwal, 1997), tónica (Kirtikar y Basu, 1935; Uphof, 1968), estimuladora del apetito y emética (Ross, 1999). Diversas partes de la planta se han empleado en el tratamiento de picores, cortes, úlceras, hinchazones, fiebre biliosa, catarros, eczemas, disentería, dolores de pecho en niños (CSIR, 1962), pústulas (CSIR, 1962 y 1992; Agarwal, 1997), tumores (CSIR, 1962 y 1992), tétanos, malaria (Kirtikar y Basu, 1935; Chopra *et al.*, 1956; CSIR, 1962 y 1992; Agarwal, 1997), reumatismo (Kirtikar y Basu, 1935; Chopra *et al.*, 1956; CSIR, 1992; Agarwal, 1997), dolor de dientes (CSIR, 1962; Agarwal, 1997), constipados, dolores de cabeza, hemorragias uterinas, varicela, daños oculares, tosferina, asma (Ross, 1999), bronquitis e hipertensión arterial (Chopra *et al.*, 1969; Rastogi y Mehrota, 1995).

De los metabolitos secundarios producidos y liberados por *L. camara*: ácidos fenólicos, flavonoides, y terpenoides (Kong *et al.*, 2006), algunos son aleloquímicos que inhiben el crecimiento de otros organismos (Mersie y Singh, 1987; Jain *et al.*, 1989; Singh *et al.*, 1989; Guisalberti, 2000; Misra y Laatsch, 2000; Sharma *et al.*, 2000; Kong *et al.*, 2006). Las hojas, raíces y frutos de *L. camara* contienen aleloquímicos, principalmente alcaloides aromáticos y compuestos fenólicos (Ambika *et al.*, 2003). Se han descrito efectos alelopáticos de *L. camara* sobre la germinación y el vigor de las plántulas de diferentes cultivos, como arroz (Bansal, 1998; Oudhia y Tripathi, 1999), trigo (Oudhia y Tripathi, 2000) y soja (Oudhia, 1999). El crecimiento de *Cyclosorus dentatus* Forsk., *Morrenia odorata* Lindl., *Lolium multiflorum* Lam., *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L. y *Glycine max* (Linn.) Merr. fue inhibido significativamente por compuestos alelopáticos extraídos de *L. camara* (Achhireddy *et al.*, 1985 y Sharma *et al.*, 2005).

Los aleloquímicos de *L. camara* solubles en agua inhibieron la germinación y el crecimiento de cultivos agrícolas (*Oryza sativa* L., *Triticum aestivum* L., *Vigna sinensis* (L.) Hassk., *Cucurbita pepo* L., *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, *Amaranthus tricolor* L.) y especies forestales (*Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth. & Hook., *Paraserianthes falcataria* (L.) Nielson, *Albizia procera* (Roxb.) Benth.) de Bangladesh en condiciones de laboratorio (Hossaim y Alam, 2010).

L. camara no produce gran cantidad de aceite esencial (Guisalberti, 2000). Los máximos rendimientos obtenidos por hidrodestilación de hojas fueron del 0.2%, y de las flores, hasta un 0.6% (Gildermeister y Hoffmann, 1961; Ahmed *et al.*, 1972). Se puede encontrar aceite esencial comercializado. Recientes estudios han investigado la composición de muestras de diferentes orígenes. El aceite esencial de *L. camara* de Brasil contenía principalmente derivados del β -bisaboleno (65%) y solamente trazas de monoterpenos. Los sesquiterpenos presentes eran β -curcumeno (1.5%), (*E*)-nuciferal y (*Z*)-nuciferol (3.9%), (-)-ar-curcumen-15-al (5.6%), γ -curcumeno (8%), ar-curcumeno (9.7%), (-)-*epi*- β -bisabolol (\approx 10%) y (-)- γ -curcumen-15-al (14.9%). Esta muestra contenía compuestos (5%) con esqueleto del italiceno (Guisalberti, 2000). Se han observado notables diferencias en la composición de muestras de diferentes lugares de Brasil (Da Silva *et al.*, 1999). Muestras de Madagascar y de India Central fueron variables, tanto en las cantidades de monoterpenos como en las de sesquiterpenos y en la variedad de los mismos (Möllenbeck *et al.*, 1997; Ngassoum *et al.*, 1999; Weyerstahl *et al.*, 1999).

El aceite esencial de hojas de *L. camara* de diferentes orígenes se caracteriza por un alto contenido en sesquiterpenos hidrocarbonados (Ngassoum *et al.*, 1999; Ouamba *et al.*, 2006). No obstante, el grupo fitoquímico del componente mayoritario depende de la parte de la planta utilizada para su obtención (Khan *et al.*, 2003).

Se han descrito propiedades antifúngicas y antibacterianas del aceite esencial de *L. camara* de Calicut (India), siendo activo frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* y *Candida albicans* (Deena y Thoppil, 2000).



Lantana camara L.

2.3.1.2. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

El género *Eucalyptus* L'Hér. (Familia Mirtáceas) es nativo de Australia. Comprende 700 especies distribuidas por todo el mundo. Son árboles altos, de hojas perennes, aromáticas, ricas en glándulas de aceite, fuente de importantes aceites esenciales comerciales, que tienen numerosos usos en farmacia, perfumería y en la industria (Brooker y Kleinig, 2006). Las especies productoras de aceite esencial son *E. citriodora*, *E. globulus*, *E. polybractea* y *E. camaldulensis* (Batish *et al.*, 2008). Los aceites esenciales de eucaliptus están entre los más comercializados del mundo (Green, 2002).

Los eucaliptus son explotados también para la obtención de madera para pasta papelera (Zobel, 1988), proporcionan combustible de su biomasa y reducen los niveles de CO₂ atmosférico (Barton, 2000; Martin, 2002). Su aceite esencial se usa como repelente de insectos y como pesticida (Barton, 2000). Los aceites de eucaliptus se conocen desde hace cientos de años como antibacterianos, antifúngicos y antisépticos naturales (Barton, 2000).

En condiciones naturales, el aceite esencial de *Eucalyptus* le confiere propiedades alelopáticas al árbol (Kohli, 1990; Liu *et al.*, 2008), se ha demostrado que el aceite esencial emanado de las hojas retarda el crecimiento de la vegetación asociada (Del Moral y Muller, 1969; Kohli, 1990; May y Ash, 1990; Liu *et al.*, 2008).

En California, la vegetación que crece cercana a *E. camaldulensis* es inhibida severamente. Las plantas anuales raramente alcanzan la madurez donde se acumula la hojarasca de *E. camaldulensis*. Entre la vegetación arvense y los eucaliptus siempre se observa una zona desnuda, donde no hay ni hojarasca ni vegetación. Se verificó que la falta de vegetación no era debida a la competencia por agua, y se determinaron algunas toxinas volátiles y otras solubles en agua en los tejidos de *E. camaldulensis*. Se encontraron dos terpenos altamente tóxicos, cineol y α -pineno absorbidos en las partículas coloidales del suelo de las zonas sin vegetación. Los terpenos absorbidos resultaban tóxicos para las semillas y plántulas de otras especies. Toxinas solubles en agua encontradas en la hojarasca inhibieron el crecimiento de hierbas en experimentos realizados en laboratorio, invernadero y campo. Entre las 10 toxinas fenólicas aisladas, se identificaron 5, los ácidos cafeico, clorogénico, *p*-cumárico, ferúlico y gállico. La inhibición de las hierbas no se producía en arena. Las condiciones óptimas para el efecto alelopático se constataron en suelos pobremente drenados, pobremente aireados, superficiales y con gran contenido coloidal, ya que favorecían la acumulación de toxinas (Del Moral y Muller, 1970).

Se han descrito efectos alelopáticos de hojarasca de *E. camaldulensis* sobre cultivos y especies forestales en ensayos de invernadero en Bangladesh (Ahmed *et al.*, 2008).

Aceites esenciales de diversas especies de *Eucalyptus* han mostrado fitotoxicidad frente a arvenses, lo que les confiere un gran potencial para su manejo y control, entre ellos *E. citriodora* (Kohli *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 2005; Setia *et al.*,

2007), *E. tereticornis* (Kohli *et al.* 1998) y *E. camaldulensis* (Batish *et al.*, 2007, Verdeguer *et al.*, 2009).

Extractos de algunas especies de *Eucalyptus* manifestaron actividad alelopática frente al algodón, por lo que se desaconseja su plantación cerca de ellos (Khan *et al.*, 2004). Extractos acuosos de hojas de *E. camaldulensis* han mostrado efectos alelopáticos sobre *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Sasikumar *et al.*, 2004) y otros cultivos (Ahmed *et al.*, 2004).

El aceite esencial de *E. camaldulensis* de diferentes lugares: Cerdeña (Barra *et al.*, 2010), Grecia (Tsiri *et al.*, 2003), Etiopía (Dagne *et al.*, 2000), Mozambique (Pagula *et al.*, 2000), Nigeria (Oyedeji *et al.*, 2000), sur de Florida (Pappas y Shepard-Hanger, 2000), ha sido estudiado, habiendo grandes diferencias en cuanto a su composición tanto cualitativa como cuantitativa, que varía dependiendo del origen y el estado vegetativo, la estación, el clima y la edad (Tsiri *et al.*, 2003; Batish *et al.*, 2006b, Barra *et al.*, 2010).



Eucalyptus camaldulensis Dehnh.

2.3.1.3. *Eriocephalus africanus* L.

Conocida comúnmente como “romero salvaje” (Njenga, 2005; Merle *et al.*, 2007), *E. africanus* pertenece a la familia Asteraceae. El género *Eriocephalus* es endémico del sur de África, con la mayor concentración de especies en el oeste y norte del Cabo (Müller *et al.*, 2001). Comprende 32 especies, distribuidas en Sudáfrica, Namibia, Botswana y Lesotho (Bremer, 1994; Müller *et al.*, 2001). *E. africanus* es nativa de la región del sudoeste del Cabo en Sudáfrica, donde se encuentra ampliamente distribuida (Merle *et al.*, 2007). Crece en las primeras etapas de colonización del Fynbos, en litosuelos y acantilados marinos (Merle *et al.*, 2007). Se han distinguido 2 variedades dentro de esta especie (Müller *et al.*, 2001), *E. africanus* var. *africanus* y *E. africanus* var. *paniculatum*, que presentan diferente hábito de crecimiento y distinta dispersión (la var. *paniculatum* se encuentra en altitudes

mayores que la var. *africanus*, y más ampliamente distribuida). Las hojas de la var. *africanus* presentan mayor succulencia. En la mayoría de áreas mediterráneas *E. africanus* se ha naturalizado, utilizándose como planta ornamental (Verdeguer *et al.*, 2009).

Es una planta aromática, con hojas verde-grisáceas, conocida por sus usos industriales, culinarios y medicinales. A nivel industrial, se utiliza como fuente de aceite esencial, con usos en cosmética para el cuidado de la piel y en aromaterapia (Njenga, 2005). Se utiliza como condimento, en sustitución del romero, para aromatizar carnes y pescados, y sus hojas se toman en infusión (Njenga, 2005). En medicina tradicional ha sido empleada como diaforética y diurética, y para tratar edemas, trastornos gastrointestinales e infecciones dérmicas (Njenga, 2005).



Eriosephalus africanus L.

Ensayos farmacológicos mostraron actividad antifúngica de extractos orgánicos de *E. africanus* contra *Candida albicans*, mientras extractos orgánicos y extractos acuosos fueron activos frente a *Staphylococcus aureus* (Salie *et al.* 1996). Se han descritos propiedades analgésicas y antipiréticas de los extractos acuosos de hojas de *E. africanus* (Amabeoku *et al.*, 2000). También se ha constatado la actividad antioxidante de especies del género *Eriosephalus* (Njenga y Viljoen, 2006).

Estudios fitoquímicos, mostraron que *E. africanus* contiene dehidrofalcarinol, dehidrofalcarinona, flavonoides y lactonas sesquiterpénicas tipo eudesmanólidos. Su rendimiento en aceite esencial, obtenido por hidrodestilación, fue del 0.1%. Los

extractos acuosos de hojas contenían flavonoides de varios tipos, especialmente flavonas (Bolhmann y Zdero, 1972; Zdero *et al.*, 1987; Njenga, 2005).

Se estudió la composición de aceites esenciales de 6 poblaciones de *E. africanus* var. *africanus* de Sudáfrica, presentando grandes diferencias entre ellas, incluso siendo distintos sus componentes mayoritarios (Njenga, 2005).

El aceite esencial de 3 poblaciones de España fue analizado (Merle *et al.*, 2007), siendo los componentes mayoritarios el monoterpeno oxigenado Artemisia cetona (56.46-56.58%) y los sesquiterpenos oxigenados intermedeol (9.19-11.63%) y γ -eudesmol (4.26-5.64%). El alto contenido de artemisia cetona, compuesto característico de plantas con propiedades alelopáticas del género *Artemisia* (Tan *et al.*, 1998; Preston *et al.*, 2002), propició el estudio de su potencial alelopático. La actividad alelopática o fitotóxica de *E. africanus* no había sido evaluada con anterioridad (Verdeguer *et al.*, 2009).

2.3.1.4. *Cistus ladanifer* L.

C. ladanifer L. (Cistáceas) es un arbusto de origen Mediterráneo, donde se encuentra muy extendido, siendo especialmente abundante en la Península Ibérica y el noroeste de África (Fernández-Arroyo *et al.*, 2010), que crece en suelos silíceos (Juhren, 1966; Robles *et al.*, 2003). Se le conoce comúnmente como “jara pringosa” (Alías, 2006), debido a que sus hojas y tallos segregan una sustancia pegajosa llamada ládano, ampliamente utilizada en la industria de la perfumería (Alías, 2006; Fernández-Arroyo *et al.*, 2010). En la medicina tradicional, este exudado se ha utilizado para tratar la diarrea, disentería, el catarro y problemas menstruales (Fernández-Arroyo *et al.*, 2010). La composición del ládano ha sido ampliamente estudiada, presentando como compuesto mayoritario α -pineno (García-Martín y García-Vallejo, 1969), además de diterpenos, flavonoides (Pascual *et al.*, 1972, 1974, 1977, 1979, 1982), y otros compuestos fenólicos (Chaves *et al.*, 2001a), siendo muy rica en polifenoles (Robles *et al.*, 2003; Gomes *et al.*, 2005; Fernández-Arroyo *et al.*, 2010).

Estudios previos sobre los matorrales de *C. ladanifer* (Malato-Beliz *et al.*, 1992) constataron que la biodiversidad florística donde crecen estas plantas era marcadamente menor que en zonas adyacentes sin su presencia. Estos y otros trabajos posteriores (Ruiz de la Torre, 1981; López-González, 2001) concluyeron que el fenómeno puede ser atribuido a los efectos alelopáticos de *C. ladanifer* (Alías, 2006). Los exudados secretados por las hojas de *C. ladanifer* mostraron actividad inhibitoria de la germinación de especies herbáceas, que no se encuentran normalmente en los jarales (Chaves *et al.*, 1993; Chaves y Escudero, 1997; Chaves *et al.*, 2001a; Chaves *et al.*, 2001b; Chaves *et al.*, 2003). Extractos acuosos de hojas de *C. ladanifer* se ensayaron frente a la germinación de 20 especies que normalmente comparten su hábitat (Herranz *et al.*, 2006). La germinación de *Phillyrea angustifolia* L., *Phillyrea latifolia* L., *Rhamnus alaternus* L., *Halimium ocymoides* (Lam.) Willk., *Cistus populifolius* L., *Erysimum lagascae* Rivas Goday & Bellot, *Brassica*

barrelieri (L.) Janka, *Silene tridentata* Desf. y *Moricandia moricandioides* (Boiss.) Heywood fue inhibida y retrasada.

En diferentes poblaciones de *C. ladanifer* se estudió la variación cuantitativa y cualitativa del exudado de sus hojas y tallos, incluyendo el contenido en geninas de flavonoides (Sosa *et al.*, 2005). Fueron establecidos dos grupos de poblaciones, por las diferentes condiciones climáticas en que se desarrollaban. Las poblaciones que sufrían mayor estrés térmico e hídrico sintetizaron mayor exudado y flavonoides totales. Las condiciones climáticas en que se desarrolla *C. ladanifer* condiciona la diversificación de los flavonoides presentes en el exudado de su hojas y tallos.

La producción de flavonoides varía ampliamente, tanto cualitativa como cuantitativamente, entre los órganos de una planta y durante la senescencia. Depende del crecimiento de la planta y de las estaciones (Siegelman, 1964; Harborne, 1967; Graham, 1991; Chaves *et al.*, 1993; Hare, 2002). Se ha propuesto que la síntesis de flavonoides debe ser considerada un mecanismo de defensa de las plantas contra el estrés (Bell, 1980; Chapell y Hahlbrock, 1984; Vogt *et al.*, 1991; Panagopoulos *et al.*, 1992; Ziska *et al.*, 1993; Cen y Bornman, 1993; Chaves *et al.*, 1997), y que desempeñan importante funciones ecológicas, como antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, antiherbívoros, y como agentes alelopáticos (Pandji *et al.*, 1993; Weidenborner y Jha, 1993; Ziska *et al.*, 1993; Grayer y Harborne, 1994; Chaves y Escudero, 1997; Chaves *et al.*, 2001b; Kidd *et al.*, 2001).

Por primera vez, ha sido determinada la composición del extracto acuoso de partes aéreas de *C. ladanifer*, a partir de planta fresca, conteniendo flavonoides, ácidos fenólicos y elagitaninos, entre otros compuestos (Fernández-Arroyo *et al.*, 2010).

Extractos etanólicos y acetona/agua de *C. ladanifer* mostraron actividad antioxidante e inhibitoria del crecimiento de fibroblastos humanos (Andrade *et al.*, 2009). Se ha relacionado su actividad con las fracciones fenólica y flavonoide (Andrade *et al.*, 2009; Fernández-Arroyo *et al.*, 2010).

La composición del aceite esencial de *C. ladanifer* de diferentes orígenes ha sido estudiada. Los principales constituyentes identificados en una muestra comercial de *C. ladanifer* producido en España (Simon-Fuentes *et al.*, 1987) fueron α -pineno (35%), canfeno (10%), *p*-cimeno (4%) y acetato de bornilo (3.7%). El aceite esencial de plantas de *C. ladanifer* de origen español cultivadas en Córcega (Mariotti *et al.*, 1997) presentó como componentes mayoritarios α -pineno (39%), viridiflorol (11.8%), acetato de bornilo (3.1%) y ledol (3.3%). Se estudió la composición del aceite esencial de 2 variedades de *C. ladanifer* de Francia, observándose la presencia de α -pineno y viridiflorol en ambas variedades (Robles *et al.*, 2003). Las muestras de aceite esencial de *C. ladanifer* var. *albiflorus* contenían menores porcentajes de α -pineno y mayores de viridiflorol, que las de *C. ladanifer* var. *maculatus*. El aceite esencial de *C. ladanifer* de Portugal se caracterizó por contener grandes cantidades de viridiflorol (Gomes *et al.*, 2005). Se determinaron viridiflorol (19.6%), acetato de bornilo (16.7%) y canfeno (12.3%) como los principales cons-

tituyentes del aceite esencial de hojas de *C. ladanifer* del norte de Marruecos (Greche *et al.*, 2009).

Ha sido descrita la actividad antimicrobiana del aceite esencial y extractos de *C. ladanifer* (Greche *et al.*, 2009).

No se han llevado a cabo estudios de la actividad fitotóxica o del potencial alelopático del aceite esencial de *C. ladanifer*.



Cistus ladanifer L.

2.3.1.5. *Artemisia gallica* Willd. y *Artemisia annua* L.

El género *Artemisia* L. (Asteráceas) comprende unos 500 taxones entre especies y subespecies, el número es variable, según las clasificaciones (McArthur 1979; Mabberley 1990; Ling 1991a y b, 1995a y b; Bremer y Humphries, 1993). La mayoría de plantas pertenecientes a este género son perennes, menos de 10 especies son anuales (Torrell *et al.*, 2003). Se encuentra ampliamente distribuido en el hemisferio norte y casi ausente en el hemisferio sur (Torrell *et al.*, 2003)

Muchas especies de este género son ampliamente utilizadas, con diferentes fines (Torrell *et al.*, 2003): alimentarios (como *A. absinthium* L., de la que se extrae la absenta, empleada en la preparación de licores, y *A. dracunculus* L., de la que se extrae el estragón, utilizado como especia), medicinales (especies antihelmínticas, como *A. santonica* L. y antimaláricas, *A. annua* L.), forrajeros (*A. herba-alba* Asso y especies afines en las estepas y semidesiertos del sur de Europa, norte de África y centro de Asia) y ornamentales (*A. arborescens* L. entre muchas otras, y *A. vulgaris* L. en restauración paisajística). Algunos taxones, como *A. verlotiorum* Lamotte, son especies invasivas que pueden causar pérdidas en agricultura (Torrell *et al.*, 2003).

Unas 260 especies de *Artemisia* han sido objeto de estudio, según la bibliografía existente, por sus metabolitos secundarios (Tan *et al.*, 1998). Se han descrito sustancias con propiedades antimaláricas, antivirales, antitumorales, antipiréticas, antihemorrágicas, anticoagulantes, antianginosas, antioxidantes, antihepatitis, antiulcerogénicas y antiespasmódicas (Tan *et al.*, 1998).

Algunos de los compuestos bioactivos incluidos en el género *Artemisia* son mono (Martin *et al.*, 1988) y sesquiterpenoides (Kelsey y Shafizadeh, 1979; Bergendorff y Sterner, 1995), flavonoides (Kiso *et al.*, 1984; Giordano *et al.*, 1990; Guerreiro *et al.*, 1995), cumarinas (Graven *et al.*, 1992; Gilani y Janbaz, 1993), derivados del ácido isoprenilcumárico (Mehrotra *et al.*, 1993), ácidos cafeoilquínicos (Swiader y Lamer-Zarawska, 1996), acetilenos (Yun *et al.*, 1993) y esteroles (Yun y Kil, 1992). Las especies fuente de estos compuestos y su bioactividad han sido recopiladas (Tan *et al.*, 1998).

En el género *Artemisia* han sido descritos compuestos aleloquímicos, como acetilenos y mono y sesquiterpenos (Tan *et al.*, 1998). La artemisina y sus análogos semi-sintéticos han mostrado actividad como inhibidores del crecimiento de plantas (Bagchi *et al.*, 1997), por lo que podrían ser utilizados en agricultura como herbicidas. La capillina obtenida de raíces de *A. capillaris* mostró actividad inhibidora de la germinación de semillas de mijo, repollo, pensamiento y zanahoria (Yano, 1987). En cambio, el capillarol, obtenido también de esta planta, estimuló el crecimiento de plántulas de arroz (Yano e Ishizu, 1994).

Se ensayaron extractos acuosos y compuestos volátiles de las especies *A. tridentata*, *A. cana*, *A. absinthium*, *A. frigida* y *A. dracuncululus* sobre la germinación de algunas especies de pradera, mostrando efectos inhibitorios selectivos sobre ellas (Hoffman y Hazlett, 1977).



Artemisia gallica Willd.



Artemisia annua L.

Artemisia gallica es una especie Mediterránea, nativa de Francia (Viehoever y Capen, 1923) y endémica del sur de Europa (Ladero *et al.*, 1984). Se trata de una especie halófila, característica de los pastizales que bordean las hondonadas salinas inundables. Su hábitat, las estepas salinas mediterráneas, se ha considerado de interés comunitario en España (De la Cruz, 2009).

La composición del aceite esencial de *A. gallica* de diferentes orígenes ha sido determinada (Villar *et al.*, 1983; Biondi *et al.*, 2000) y se han descrito sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias (Morán *et al.*, 1989). Extractos de *A. gallica* mostraron propiedades antiasmáticas (Morán *et al.*, 1989). Algunos compuestos han sido aislados de *A. gallica*, como las lactonas sesquiterpénicas artegallin (San Feliciano *et al.*, 1986), β -santonina y arsubina (Martin *et al.*, 1988).

No se han llevado a cabo estudios sobre la actividad fitotóxica o alelopática de *A. gallica*.

Artemisia annua es una planta anual muy aromática de origen asiático y europeo oriental (Simon *et al.*, 1990), ampliamente dispersa en la región templada (Simon *et al.* 1984). De ella se extrae la artemisina, una lactona sesquiterpénica con propiedades antimaláricas, por lo que *A. annua* ha sido ampliamente utilizada (Klayman, 1985; Bagchi *et al.*, 1997; Tan *et al.*, 1998;). La artemisina ha mostrado actividad fitotóxica (Duke *et al.*, 1987; Luo y Shen, 1987), inhibiendo la germinación y el crecimiento de diferentes mono y dicotiledóneas, tanto cultivos como arvenses (Bagchi *et al.*, 1997). Otros compuestos relacionados con la artemisina, como los ácidos artemisínico y artesúnico, la desoxiartemisina y el artelinato sódico también son fitotóxicos, con diferentes grados de actividad (Chen y Leader, 1990; Stiles *et al.*, 1994).

Se evaluaron las propiedades alelopáticas de hojas de *A. annua* y sus extractos de cloruro de metileno, metanólicos y acuosos en suelo franco arenoso frente a *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, soja y maíz (Lydon *et al.*, 1997). Los resultados fueron diferentes, según la especie, mostrando mayor reducción del peso seco las arvenses. Solamente el tratamiento con hojas de *A. annua* y su extracto de cloruro de metileno redujeron la germinación de semillas. La artemisina pura, a dosis similares a las contenidas en los extractos de cloruro de metileno, mostró menor actividad que dicho extracto. Los extractos acuosos, que no contenían artemisina, ejercieron una actividad similar a la artemisina pura, por lo que los efectos alelopáticos de *A. annua* no son sólo debidos a la artemisina (Lydon *et al.*, 1997).

Se ha determinado la composición del aceite esencial de *A. annua* de diferentes orígenes, siendo muy variable (Simon *et al.*, 1990; Juteau *et al.*, 2002; Woerdenbag *et al.*, 1994; Holm *et al.*, 1997), mostrando actividad antimicrobiana y antioxidante (Juteau *et al.*, 2002).

2.3.1.6. *Lavandula angustifolia* Mill.

Las lavandas (*Lavandula* spp.) son especies aromáticas de origen Mediterráneo, pertenecientes a la familia Labiadas, que forman parte de la vegetación típica

del matorral mediterráneo. Han sido ampliamente utilizadas como plantas medicinales, ornamentales y como fuente de productos para la industria cosmética.

Numerosas especies del género *Lavandula* han mostrado actividad biológica (Haig *et al.*, 2009). Se han descrito las propiedades antimicrobianas (Romeo *et al.*, 2008; Roller *et al.*, 2009), antifúngicas (Moon *et al.*, 2007), antiparásitas (Moon *et al.*, 2006) e insecticidas (Papachristos y Stamopoulos, 2004; Pavela, 2005) de aceites esenciales de diferentes especies de *Lavandula*.

Se han estudiado los efectos fitotóxicos y alelopáticos de algunas especies de *Lavandula*. Extractos acuosos de tallos de *L. officinalis* mostraron efectos alelopáticos sobre la germinación y el crecimiento de *Amaranthus retroflexus* y *Chenopodium murale* (Qasem, 2002). Extractos de *L. stoechas* inhibieron la germinación y el crecimiento de *Triticum aestivum* y *Phalaris minor* en ensayos de laboratorio (Dias *et al.*, 1995). Los aceites esenciales de *L. stoechas* y *L. angustifolia* han mostrado efectos fitotóxicos sobre el crecimiento de *A. retroflexus* y *Portulaca oleracea* infestantes en cultivo de tomate y algodón (Argyropoulos *et al.*, 2008). Compuestos volátiles de *L. angustifolia* influyeron negativamente la germinación de *Xanthium strumarium*, *Avena sterilis* y *Phalaris brachystachys* (Uremis *et al.*, 2009).

Han sido estudiados los compuestos constituyentes de extractos y aceites esenciales de diferentes especies de *Lavandula*. Entre ellos, se han identificado compuestos fenólicos (Areias *et al.*, 2000) y terpenos (Salido *et al.*, 2004; Aburjai *et al.*, 2005). Se aislaron seis triterpenoides de partes aéreas de *L. spica* (Papanov *et al.*, 1992). La fenchona se determinó como compuesto mayoritario de aceites esenciales de *L. stoechas* (Angioni *et al.*, 2006).

Extractos de *Lavandula* spp. mostraron alta fitotoxicidad frente a *Lolium rigidum* (Haig *et al.*, 2005). Se comprobó que la cumarina y la 7-metoxicumarina eran responsables de esta actividad (Haig *et al.*, 2009).



Lavandula angustifolia Mill



Rosmarinus officinalis L.

2.3.1.7. *Rosmarinus officinalis* L.

R. officinalis es un arbusto esclerófilo (Estaún *et al.*, 1997) originario del Mediterráneo, donde se encuentra muy extendido (Sardans *et al.*, 2005). Ha sido ampliamente utilizado en medicina tradicional, industria cosmética, fitofarmacia y como aromatizante de alimentos (Bruneton, 1999). Es una planta muy aromática (Bozin *et al.*, 2007) perteneciente a la familia Labiadas.

Se han llevado a cabo diferentes estudios sobre la actividad biológica de sus metabolitos secundarios (Buchbauer y Jirovetz, 1994; Ruberto y Baratta, 2000; Daferera *et al.*, 2000), mostrando una gran actividad antioxidante (Madsen y Bertelsen, 1995; Baratta *et al.*, 1998; Bicchi *et al.*, 2000; Yanishlieva *et al.*, 2006; Bozin *et al.*, 2007). El romero es la única especia disponible en el mercado para su uso como antioxidante en Europa y Estados Unidos (Bozin *et al.*, 2007). Compuestos fenólicos como el carnosol, ácido carnosólico, rosmanol, rosmadial, epirosmanol, rosmadifenol y ácido rosmarínico tienen capacidad antioxidante (Madsen y Bertelsen, 1995; Bicchi *et al.*, 2000; Yanishlieva *et al.*, 2006).

Ha sido ampliamente documentada la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *R. officinalis* (Daferera *et al.*, 2000; Baratta *et al.*, 1998; Celiktas *et al.*, 2007; Salamone *et al.*, 2010).

Muchas especies de la familia Labiadas liberan monoterpenos fitotóxicos que interfieren el desarrollo de especies herbáceas (Elakovich y Stevens, 1985; Katz *et al.*, 1987). La actividad fitotóxica y alelopática del aceite esencial de *R. officinalis* de diferentes orígenes ha sido ensayada frente a diversos cultivos y especies arvenses (Dudai *et al.*, 1999; Angelini *et al.*, 2003; Arminante *et al.*, 2006; Azirak y Karaman, 2008; Salamone *et al.*, 2010), mostrando actividad selectiva, dependiente de la especie frente a la que actúa y de los compuestos mayoritarios presentes en su composición (Angelini *et al.*, 2003; Salamone *et al.*, 2010).

2.3.1.8. *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link y *Thymus vulgaris* L.

El género *Thymus* contiene unas 350 especies de hierbas perennes aromáticas y sub-arbustos de hasta 40 cm de alto, pertenecientes a la familia Labiadas (Qaralleh *et al.*, 2009).

Thymus capitatus es una especie Mediterránea que crece entre los 0 y los 600 m sobre el nivel del mar y se encuentra ampliamente distribuida en el sur de Italia (Miceli *et al.*, 2006). Se halla típicamente en las garrigas, laderas secas y bosques de pino Mediterráneo, considerándose un buen indicador del área seca Mediterránea (Pignatti, 1982b). Ha sido estudiada la composición del aceite esencial de *T. capitatus* de diferentes orígenes: Sicilia (Ruberto y Biondi, 1992; Biondi *et al.*, 1993), Cerdeña (Falchi Delitala *et al.*, 1983; Arras y Grella, 1992) y Albania (De Leo *et al.*, 2001; Miceli *et al.*, 2002), mostrando todas ellas que las poblaciones estudiadas contenían carvacrol, y pequeñas cantidades de timol, normalmente por debajo del 1% (Miceli *et al.*, 2006). Se analizaron los aceites esenciales de diferen-

tes poblaciones de *T. capitatus* del sur de Apulia (Italia), determinándose 3 quimiotipos: timol, carvacrol, y timol/carvacrol (Miceli *et al.*, 2006).

Han sido descritas diferentes actividades biológicas de *T. capitatus*, como antimicrobiana (Alves *et al.*, 2000; Al-Tarawneh, 2004; Bounatirou *et al.*, 2007; Ebrahimi *et al.*, 2008), antifúngica (Grayer y Harborne, 1994; Kalemba y Kunicka, 2003; Ricci *et al.*, 2005) y antioxidante (Ricci *et al.*, 2005; Bounatirou *et al.*, 2007; Al-Mustafa y Al-Thunibat, 2008).

Se han llevado a cabo diversos estudios sobre el potencial alelopático de *T. capitatus*. En Israel, se observó la supresión de diversas anuales, como *Plantago psyllium* y *Erucaria hispanica*, alrededor de formaciones de *T. capitatus*, verificándose estos efectos en laboratorio, al ser inhibida la germinación de ambas especies por volátiles procedentes de brotes de *T. capitatus*, así como por sus extractos acuosos y aceites esenciales (Katz *et al.*, 1987). El aceite esencial de *T. capitatus* ha mostrado efectos fitotóxicos sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de diversas especies, además de ejercer una acción autoalelopática (Katz *et al.*, 1987; Vokou y Margaritis, 1986a; Dudai *et al.*, 1999).

Thymus vulgaris es una especie común en la vegetación de la garriga abierta Mediterránea. Es bien conocida su producción de metabolitos secundarios (Ehlers y Thompson, 2004). Su aceite esencial ha sido empleado en la industria farmacéutica y cosmética, y como aditivo aromático en alimentación (Senatore, 1996; Simon *et al.*, 1999; Javanmardi *et al.*, 2002). Han sido descritas sus propiedades anti-sépticas, carminativas, antimicrobianas y antioxidativas (Baranauskiene *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2005).

Se han llevado a cabo diversos ensayos sobre la actividad fitotóxica o alelopática del aceite esencial de *T. vulgaris* frente a la germinación y el crecimiento de arvenses, como *Chenopodium album*, *Portulaca oleracea* y *Echinochloa crus-galli* y cultivos: *Raphanus sativus*, *Capsicum annuum*, *Lactuca sativa*, *Triticum aestivum*, entre muchas otras especies, mostrando gran actividad (Dudai *et al.*, 1999; Angelini *et al.*, 2003; Arminante *et al.*, 2006; Rolim de Almeida *et al.*, 2010).



Thymus capitatus (L.) Hoffmanns. et Link.



Tagetes lemmonii A. Gray.

2.3.1.9. *Tagetes lemmonii* A. Gray.

El género *Tagetes* pertenece a la familia Compuestas y comprende unas 45-50 especies (Strother, 1977; Lawrence, 1985). *T. lemmonii* es un arbusto muy aromático, nativo de Arizona y Méjico (Norteamérica), ampliamente cultivado como planta ornamental.

Diferentes especies de *Tagetes* han demostrado tener efectos beneficiosos al ser empleadas en rotación de cultivos, como cultivo mixto y como cultivo de cobertura (Vasudevan *et al.*, 1997; Gómez-Rodríguez *et al.*, 2003; Hooks *et al.*, 2010).

Se han descrito diferentes actividades de extractos y aceites esenciales de *Tagetes* spp., una de las más destacables es su actividad nematocida, debido a los téniles que contienen (Vasudevan *et al.*, 1997; Krueger *et al.*, 2007; Hooks *et al.*, 2010), que además reducen la incidencia de otros organismos perjudiciales, como hongos, bacterias, insectos y algunos virus (Hethelyi *et al.*, 1986; Soule, 1993).

Aceites esenciales de *Tagetes* spp. han mostrado actividad antimicrobiana (Hethelyi *et al.*, 1988), insecticida (López *et al.*, 2011) y alelopática (Scrivanti *et al.*, 2003). Su actividad se ha atribuido a los terpenoides (Vasudevan *et al.*, 1997; López *et al.*, 2009). Las especies de *Tagetes* también se emplean como colorantes alimentarios (Vasudevan *et al.*, 1997; Guinot *et al.*, 2008).

Diversos estudios se han llevado a cabo sobre la actividad alelopática de *Tagetes* spp., siendo *T. minuta* la especie más estudiada bajo este aspecto (Lee *et al.*, 2002; Scrivanti *et al.*, 2003; Gómez-Rodríguez *et al.*, 2003; López *et al.*, 2009), concluyendo que las ocimenonas, compuestos presentes en el aceite esencial de *T. minuta*, ejercen una actividad fitotóxica sobre las especies cohabitantes (López *et al.*, 2009).

La composición del aceite esencial de *Tagetes* spp. ha sido ampliamente estudiada (Hethelyi *et al.*, 1987; Machado *et al.*, 1994; Vasudevan *et al.*, 1997; López *et al.*, 2011). Se determinó la composición de aceite esencial de *T. lemmonii* cultivada en Estados Unidos (Tucker y Maciarelo, 1996), siendo los compuestos mayoritarios (en %) dihidro-tagetona (42.52 ± 11.2), *trans*-tagetona (16.10 ± 18.21) y *trans*-ocimenona (14.18 ± 3.31).

Hasta la actualidad no se estudiado la actividad fitotóxica o alelopática de *T. lemmonii*.

2.3.1.10. *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér.

El género *Pelargonium* (familia Geraniáceas) incluye unas 270 especies, la mayoría de las cuales (un 80%) son endémicas de Sudáfrica (Guerrini *et al.*, 2011). Su centro de biodiversidad se localiza en la parte sudoeste de la provincia de El Cabo, un área caracterizada por tener clima de tipo mediterráneo (Miller, 2002; Kolodziej, 2007). Distintas especies de *Pelargonium* son cultivadas por su alto valor como planta ornamental en todo el mundo (Albers y Van der Walt, 2007), y para la extracción de su aceite esencial.

Algunas especies de *Pelargonium*, como *P. graveolens*, *P. capitatum*, *P. zonale*, *P. roseum*, *P. odoratissimum* e híbridos emparentados producen un aceite con aroma de rosas, rico en citronelol y geraniol, obtenido por destilación en corriente de vapor de hojas frescas y ramas, que es ampliamente comercializado para la manufactura de perfumes y productos para el cuidado de la piel llamado comúnmente “aceite de geranio” (Guerrini *et al.*, 2011). Además es altamente apreciado por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas, vulnerarias y como repelente de insectos (Bown, 1995; Westwood, 1993; Pattnaik *et al.*, 1996; Rajeswara Rao *et al.*, 1996; Lis-Balchin *et al.*, 1998; Hart y Lis-Balchin, 2002; Hori, 2003).

P. odoratissimum es una planta aromática con propiedades astringentes, tónicas y antisépticas (Grieve, 1984; Bown, 1995), de la que existe poco conocimiento técnico y científico (Andrade *et al.*, 2011). Se han llevado a cabo estudios para analizar la composición de su aceite esencial y determinar sus propiedades biológicas (Salamone *et al.*, 2010). Metileugenol, limoneno y fenchona fueron los componentes mayoritarios del aceite esencial de hojas de *P. odoratissimum* cultivado en el Reino Unido, verificándose *in vitro* que dicho aceite ejercía un efecto espasmolítico postsináptico sobre el músculo liso, lo que hace recomendable su uso como agente relajante en productos para aromaterapia (Balchin y Roth, 2000), además de mostrar actividad antibacteriana. El aceite esencial de hojas de *P. odoratissimum* de Brasil contenía un 96.8% de metileugenol, mostrando fuerte actividad antifúngica y escasa antibacteriana (Andrade *et al.*, 2011).

La actividad alelopática o fitotóxica de *P. odoratissimum* o su aceite esencial no había sido estudiada anteriormente, pero existen trabajos sobre otros aceites del mismo género: el aceite esencial de *P. graveolens* fue testado como posible bioherbicida, mostrando efecto inhibitorio sobre la germinación de trigo, aunque aceites esenciales de otras especies probados en el mismo ensayo resultaron más efectivos (Dudai *et al.*, 1999). El aceite esencial de *P. roseum* mostró fuerte actividad alelopática inhibitoria sobre el crecimiento de lechuga (Fujii *et al.*, 2003).

2.3.1.11. *Origanum vulgare* L.

El género *Origanum* (familia Labiadas) comprende plantas anuales, perennes y arbustivas nativas de las regiones Mediterránea, Euro-Siberiana e Irano-Siberiana (Aligiannis *et al.*, 2001). Se reconocen 38 especies en el mundo (Sahin *et al.*, 2004), la mayoría (un 75%) están concentradas en la subregión este Mediterránea (Ietswaart, 1980). Las especies de orégano crecen abundantemente en laderas pedregosas y en zonas rocosas de las montañas, en un amplio rango de altitudes (Snogerup, 1971).

Diferentes especies del género *Origanum* son utilizadas en agricultura y en la industria cosmética y farmacéutica, como aromatizantes de alimentos o bebidas alcohólicas, y en perfumería, por su picante fragancia (Aligiannis *et al.*, 2001; Novak *et al.*, 2000; Sivropoulou *et al.*, 1996; Vera y Chane-Ming, 1999).

La taxonomía del género es compleja (D'Antuono *et al.*, 2000). *O. vulgare* L. es la especie más variable, y la única comúnmente conocida como “orégano” en la mayoría de países Europeos (Tucker y Maciarelo, 1994). La clasificación actualmente aceptada (Ietswaart, 1980) distingue 6 subespecies de *O. vulgare* en base a caracteres morfológicos: *gracile* (Kock) Ietswaart, *glandulosum* (Desfontaines) Ietswaart, *hirtum* (Link) Ietswaart, *vulgare* L., *virens* (Hoffmannsegg et Link) Ietswaart y *viride* (Boissier) Hayek.

O. vulgare es utilizado como planta medicinal (Hossain *et al.*, 2011). Su aceite esencial ha mostrado poseer actividades biológicas antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes (Elgayyar *et al.*, 2001; Sahin *et al.*, 2004; Peñalver *et al.*, 2005). Los compuestos responsables de estas propiedades son metabolitos secundarios fenólicos, como ácido rosmarínico, carvacrol, ácido cafeico y timol (Zheng y Wang, 2001). Estos compuestos han revelado actividad anticarcinogénica, antimicrobiana, antiviral, hipolipidémica, antimutagénica, antiinflamatoria y cardiovascular (Lampe, 2003; Srinivasan, 2005).

En cuanto a sus posibles usos en agricultura, algunos trabajos han verificado las propiedades insecticidas y disuasorias de la alimentación de insectos del aceite esencial de *O. vulgare* (Karpouhtsis *et al.*, 1998; Akhtar e Isman, 2004), pero su efectividad fue menor que la de otros aceites esenciales ensayados. Se han llevado a cabo numerosos estudios sobre las propiedades alelopáticas o fitotóxicas de aceites esenciales (Arminante *et al.*, 2006; Vasilakoglou *et al.*, 2007; Rolim de Almeida *et al.*, 2010), extractos acuosos (De Mastro *et al.*, 2004; Dragoeva *et al.*, 2008; Türker *et al.*, 2008) y restos vegetales incorporados al terreno (De Mastro *et al.*, 2006; Vasilakoglou *et al.*, 2011) de *O. vulgare* y otras especies de orégano (Dudai *et al.*, 1999; Azirak y Karaman, 2008), exhibiendo una fuerte actividad inhibitoria de la germinación y el crecimiento de especies arvenses, por lo que podría emplearse para el desarrollo de herbicidas naturales.

2.3.2. Arvenses.

2.3.2.1. *Amaranthus hybridus* L.

A. hybridus (familia Amarantáceas) es una especie originaria de América (Masalles *et al.*, 1996; Maillet y López-García, 2000) naturalizada en las regiones cálidas y templadas de prácticamente todo el mundo. Aparece en comunidades arvenses nitrófilas, especialmente en regadío (Flora iberica, 1990). Se trata de una arvense altamente competitiva (Trader *et al.*, 2009) que causa pérdidas significativas en el rendimiento de las cosechas de numerosos cultivos (Lugo *et al.*, 1995). Es considerada una de las arvenses más serias y extendidas, junto con otras especies como *Portulaca oleracea* L., *Chenopodium album* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers. y *Cyperus rotundus* L. (Daehler, 1998).

Las arvenses de origen americano más importantes emergen a finales de primavera y crecen durante el verano, floreciendo tardíamente incluso hasta noviem-

bre. Se han adaptado tanto a cultivos anuales (maíz, soja y sorgo) como a cultivos perennes (frutales y viñedos). Su largo periodo de fructificación les permite formar un gran banco de semillas (Baker, 1974).

Las Amarantáceas son plantas nitrófilas y tienen una fotosíntesis de tipo C4, lo que les confiere ventajas fisiológicas frente a otras especies, sobre todo en ambientes agrícolas con fertilización y/o irrigación, ya que son capaces de producir mayor biomasa (Maillet y López-García, 2000).

Las especies de *Amaranthus* se encuentran entre las arvenses más frecuentes y problemáticas en numerosos cultivos (Webster, 2002), como remolacha azucarera (*Beta vulgaris* (L.) Beauv.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), patata (*Solanum tuberosum* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), soja (*Glycine max* (L.) Merr.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), café (*Coffea* spp.), avena (*Avena* spp.), cacahuete (*Arachis hypogea* L.), girasol (*Helianthus annuus* L.), arroz de secano (*Oryza sativa* L.), mango (*Mangifera indica* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.), cítricos (*Citrus* spp.) y papaya (*Carica papaya* L.) (Holm *et al.*, 1977).

Poseen una alta diversidad genética y producen una abundante cantidad de semillas, que distribuyen eficientemente, características que favorecen la aparición de resistencias a herbicidas (Lovell *et al.*, 1996). *A. hybridus* es una de las 10 arvenses resistentes a herbicidas de mayor importancia económica (Basu *et al.*, 2004). Ha mostrado resistencia a las triazinas (De Prado *et al.*, 1988; Jordan, 1999; De Prado y De Prado Jr., 2003; Basu *et al.*, 2004) y a los herbicidas inhibidores de la acetolactato sintasa (Whaley *et al.*, 2004 y 2006; Trader *et al.*, 2009). Los herbicidas triazinas inhiben la cadena de transporte de electrones en el fotosistema II. Una mutación en el sitio de acción del cloroplasto produce arvenses resistentes a las triazinas, como *Amaranthus* spp. Los herbicidas sulfonilureas e imidazolininas inhiben la producción de la acetolactato sintasa (ALS), enzima que controla la síntesis de cadenas de aminoácidos. Las arvenses resistentes producen una ALS modificada (Anderson, 1996).

Las especies de *Amaranthus* son pseudocereales dicotiledóneas que se pueden emplear como cultivos alternativos, con potencial para su explotación comercial (Rawate, 1983; Kauffman y Weber, 1990). Las hojas y semillas de estas especies son comestibles, ricas en vitaminas A y C, calcio, hierro, proteínas, carbohidratos y lípidos (Oomen y Grubben, 1978; Rawate, 1983). *A. hybridus* puede crecer hasta 1.5 m, produciendo una gran cantidad de biomasa en poco tiempo, y completando hasta 6 generaciones en un año. Es un vegetal nutritivo, adecuado para el cultivo en regiones semiáridas en todo el mundo. (Blodgett y Swart, 2002).

Se han estudiado las propiedades antimicrobianas de extractos de hojas de *A. hybridus*, mostrando actividad antibacteriana pero no antifúngica (Maiyo *et al.*, 2010).

Compuestos volátiles de residuos de *A. hybridus* mostraron actividad inhibitoria *in vitro* de la germinación de zanahoria, tomate y cebolla (Connick *et al.*, 1989)

Han sido estudiados los efectos alelopáticos de diversas especies sobre *A. hybridus* (Hoffman *et al.*, 1996; Caamal-Maldonado *et al.*, 2001; Petersen *et al.*, 2001; Teasdale y Pillai, 2005). Plántulas de sorgo redujeron el crecimiento de radículas de *A. hybridus* (Hoffman *et al.*, 1996). El empleo de *Mucuna deeringiana* (Bort) Merr. como “mulching” redujo la incidencia de *A. hybridus* (Caamal-Maldonado *et al.*, 2001), mientras que los isotiocianatos mostraron gran capacidad inhibitoria de su germinación (Petersen *et al.*, 2001). Nuestro grupo de investigación ha ensayado el potencial alelopático de aceites esenciales para el control de *A. hybridus* (Verdeguer *et al.*, 2009; Verdeguer *et al.*, 2011).



Amaranthus hybridus L.



Portulaca oleracea L.

2.3.2.2. *Portulaca oleracea* L.

La familia Portulacáceas engloba 30 géneros y unas 450 especies con una amplia distribución, siendo predominantes en el hemisferio sur (Eggl y Ford-Werntz, 2002). El género *Portulaca* incluye más de 100 especies (Poellnitz, 1934; Legrand, 1958) distribuidas en los trópicos y subtropicos, con centros de diversidad en Sudamérica y África (Voznesenskaya *et al.*, 2010).

P. oleracea es una especie cosmopolita (Danin y Reyes-Betancourt, 2006). Se encuentra ampliamente extendida, siendo una de las 8 plantas más comunes del mundo (Yazici *et al.*, 2007). Su lugar de origen no se conoce con exactitud, se han propuesto diversas zonas templadas del hemisferio norte (Haudricourt y Hedin, 1993): Eurasia, en concreto el sur de Europa (Walters, 1993), Europa, el oeste de Asia, China (Schoch *et al.*, 1988), India, pero también áreas subdesérticas del norte de África, lo que podría explicar el aspecto suculento de la planta (Holm *et al.*, 1977).

Dentro de la especie *P. oleracea* L., se reconocen 6 subespecies, 5 espontáneas y una cultivada (*P. oleracea* subsp. *sativa* (Haw.) Celak), que a menudo se encuentra también creciendo en estado silvestre. La subespecie más comúnmente encontrada y descrita es *P. oleracea* L. subsp. *oleracea* (sinónima de *P. oleracea* var. *sylvestris* DC.) (Pignatti, 1982a; Flora iberica, 1990; Walters, 1993; Ricciery y Arrigoni, 2000).

P. oleracea es una especie anual, con tallos suculentos, carnosos y fotosíntesis tipo C4 (Guralnick *et al.*, 2008; Voznesenskaya *et al.*, 2010). Se desarrolla en campos de cultivo, jardines, terrenos baldíos, bordes de caminos, y laderas erosionadas. Es una arvense problemática en 45 cultivos en 81 países en los trópicos y subtropicales (Chauhan y Johnson, 2009). Está considerada una de las arvenses más serias y extendidas, junto con otras especies como *Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium album* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers. y *Cyperus rotundus* L. (Daehler, 1998). Se encuentra entre las arvenses principales que afectan al cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), maíz (*Zea mays* L.), algodón (*Gossypium hirsutum* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), te (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) y hortícolas (Holm *et al.*, 1991). Recientemente, se ha registrado su presencia en arroz de siembra en seco en 17 países y en arroz de siembra en húmedo en 3 países (Rao *et al.*, 2007).

Tanto en regiones tropicales como templadas, *P. oleracea* puede completar su ciclo de vida en 2-4 meses (Singh, 1973). Se propaga principalmente por semilla, logrando originar una sola planta unas 10.000 semillas (Chauhan y Johnson, 2009), aunque fragmentos de sus tallos pueden producir raíces y desarrollarse. Actúa como huésped de insectos, nematodos y algunos hongos patógenos (Galinato *et al.*, 1999). Forma densas masas que son difíciles de controlar con herbicidas químicos (Monks, 1993). Sus suculentas hojas y tallos acumulan niveles tóxicos de oxalatos, que pueden producir enfermedades e incluso la muerte en animales (Schmutz *et al.*, 1968). Existen biotipos de *P. oleracea* resistentes a herbicidas, en concreto a la atrazina y el linurón (Masabni y Zandstra, 1999a y b).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera *P. oleracea* como una de las plantas medicinales más utilizadas. Se le ha otorgado el apelativo de “Panacea Global” (Dweck, 2001; Samy *et al.*, 2004). Existen cultivares que se usan con fines ornamentales y culinarios.

Partes aéreas de *P. oleracea* se han utilizado en medicina tradicional para aliviar el dolor y la inflamación y como antiséptico (Chan *et al.*, 2000). La planta seca también puede ser hervida y se emplea como te y sopas en China (Cai *et al.*, 2004). Extractos acuosos de *P. oleracea* no mostraron citotoxicidad o genotoxicidad, siendo certificados como aptos para el consumo diario (Yen *et al.*, 2001). Otras propiedades descritas de *P. oleracea* son sus acciones neurofarmacológicas, su actividad cicatrizante y sus efectos broncodilatadores (Parry *et al.*, 1993; Rashed *et al.*, 2003; Malek *et al.*, 2004). El glutatión, que normalmente se encuentra en grandes cantidades en la carne fresca, y en cantidades moderadas en algunas frutas y vegetales, se encuentra en *P. oleracea* (Simopoulos, 2004).

Extractos metanólicos de *P. oleracea* mostraron moderada actividad antimicrobiana (Sakai *et al.*, 1996) y propiedades antioxidantes (Lim y Quah, 2007). Extractos acuosos de hojas de *P. oleracea* mostraron mayor actividad antioxidante que extractos de tallos (Oliveira *et al.*, 2009).

Las propiedades alelopáticas de *P. oleracea* han sido poco estudiadas, en comparación con los numerosos trabajos que se han llevado a cabo relativos a los efectos de diferentes aleloquímicos sobre ella (Márcia *et al.*, 2007). Compuestos fenólicos, como los ácidos ferúlico, *p*-hidroxibenzoico y cinámico son los responsables de la actividad alelopática de *P. oleracea* y otras especies arvenses (Chun *et al.*, 1988). “Mulchings” de centeno (*Secale cereale* L.) y triticale (*Triticum secalotriticum saratoviense* Meister) mostraron efectos alelopáticos sobre *P. oleracea*, reduciendo su incidencia (Tabaglio *et al.*, 2008). La incorporación de restos de hojas y tallos de orégano al suelo inhibió la germinación de *P. oleracea* (De Mastro *et al.*, 2006). Extractos (De Feo *et al.*, 2002 y 2003) y aceites esenciales de distintas especies han sido ensayados, por su potencial alelopático, para el control de esta arvense (Angelini *et al.*, 2003; Verdeguer *et al.*, 2009 y 2011).

2.3.2.3. *Chenopodium album* L.

La familia Chenopodiáceas está formada por unos 100 géneros, que engloban 1500 especies, distribuidas en regiones templadas y subtropicales, ocupando generalmente lugares ruderalizados o hábitats salinos. *C. album* se encuentra en campos de cultivo, jardines, huertas, zonas ruderalizadas, cunetas y bordes de caminos. Es una planta subcosmopolita, común en áreas templadas y subtropicales, rara en los trópicos, y ausente en los extremos norte y sur (Flora iberica, 1990).

Está considerada una de las arvenses más serias y extendidas, junto con otras especies como *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers. y *Cyperus rotundus* L. (Holm *et al.*, 1977; Daehler, 1998). Es una arvense importante en numerosos cultivos en muchas partes del mundo, entre ellos patata, maíz, soja y remolacha azucarera (Harvey y Porcella, 1993; Perron y Légère, 2000; Thiel *et al.*, 2010). Coloniza áreas perturbadas y forma masas densas en suelos fértiles (Borjigidai *et al.*, 2009).

C. album germina bajo un amplio rango de condiciones ambientales (Bassett y Crompton, 1978), produciendo gran número de semillas, que quedan almacenadas en el suelo. En un ensayo de campo, la producción de semillas por planta de *C. album* varió desde 30.000 a 176.000 (Harrison, 1990). Semillas procedentes de plantas fertilizadas con nitrógeno muestran mayor capacidad para germinar (Fawcett y Slife, 1978; Saini *et al.*, 1985a y b; Bouwmeester, 1990). Arvenses controladas químicamente producen menos semillas (73.000/m²) que las controladas mecánicamente (766.000/m²) (Perron y Légère, 2000).

Las semillas de *C. album* presentan abundante polimorfismo. Algunas son marrones, pero la mayoría son negras, y pueden tener la superficie lisa o reticulada (Williams y Harper, 1965). La producción de distintas semillas en *C. album* es influenciada por las condiciones ambientales (Karssen, 1970). La formación de semillas marrones, con elevado peso por semilla y una fina cubierta es promovida por los días cortos. Días largos provocan la formación de semillas pequeñas, negras, con gruesas cubiertas. Estas últimas presentan latencias, mientras las marrones están listas para germinar una vez cosechadas. La latencia aumenta con el gro-

sor de la cubierta. Además de las diferencias en germinación y latencia provocadas por las condiciones ambientales, *C. album* también muestra grandes variaciones ecotípicas (Bouwmeester y Karssen, 1993).

La latencia de *C. album* fluctúa siguiendo un patrón estacional (Baskin y Baskin, 1977; Karssen 1980/81). En las zonas templadas, la emergencia de *C. album* empieza en primavera, es mayor en abril-mayo y continúa durante el verano (Roberts, 1964; Roberts y Ricketts, 1979; Hakansson, 1983; Ogg y Dawson, 1984; Van der Brand, 1987). En agosto-septiembre se produce una emergencia tardía (Williams, 1963; Williams y Harper, 1965; Roberts y Ricketts, 1979; Hakansson, 1983).

C. album es una planta anual, con fotosíntesis tipo C3. Se comparó su capacidad fotosintética con la de *A. retroflexus*, planta C4 que se desarrolla en condiciones ecológicas similares, mostrando este último una gran eficiencia fotosintética en el uso del nitrógeno foliar y del agua, mayor que *C. album* (Sage y Percy, 1987).

Se ha catalogado a *C. album* como una de las 10 arvenses resistentes a herbicidas de mayor importancia económica (Basu *et al.*, 2004). El uso intensivo de las triazinas, especialmente en el monocultivo del maíz, seleccionó genotipos de *C. album* resistentes en los años 80, tanto en Europa como en Estados Unidos (Arntzen *et al.*, 1981; LeBaron y McFarland, 1990; LeBaron, 1991). En la mayoría de plantas superiores, la resistencia contra la atrazina confiere un alto nivel de resistencia cruzada a las triazinonas, que es debida a una mutación en una proteína del Fotosistema II (Gronwald, 1994; Devine y Shukla, 2000). Esta mutación ha sido detectada en los biotipos de *C. album* resistentes a la atrazina (Bettini *et al.*, 1987; Naber *et al.*, 1990). Recientemente se han detectado biotipos de *C. album* resistentes al metamitron (herbicida triazinona) en Bélgica, Francia y Suecia (Mechant *et al.*, 2007, Thiel *et al.*, 2010). Se han observado poblaciones de *C. album* que no responden al glifosato, en cultivo de soja resistente al glifosato (Owen y Zelaya, 2005) y se han identificado numerosos biotipos de *C. album* tolerantes al glifosato (Westhoven *et al.*, 2008).

Independientemente de las tácticas usadas, *C. album* es una arvense de difícil manejo. Se ha adaptado a los sistemas de laboreo de conservación (Owen y Zelaya, 2005).

En la medicina tradicional, *C. album* ha sido utilizado por sus propiedades diuréticas, laxantes, sedantes, hepatoprotectoras y antiparasitarias durante décadas (Said, 1969; Fournier, 1999; Rivera *et al.*, 2005). Además se emplea para curar la anorexia, tos, disentería, diarrea, edemas y hemorroides. Se han descrito sus usos culinarios, consumido como verdura hervida o frita (Lentini y Venza, 2007; Chadha, 2009). Recientemente ha sido demostrada su actividad antihelmítica (Jabbar *et al.*, 2007).

Diversos trabajos se han llevado a cabo para estudiar las propiedades alelopáticas de *C. album*. La adición de extractos y restos enterrados de *C. album* en mace-

tas de tomate, redujo su peso fresco y seco, y el contenido en nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio de sus tallos (Qasem y Hill, 1989). Diferentes extractos de *C. album* (hojas, raíces, planta entera, restos y suelo de su rizosfera) inhibieron la germinación y el crecimiento de *Cassia occidentalis* (arvense) y *Phaseolus aureus* (cultivo), y sus restos enterrados mermaron el desarrollo de ambas especies, disminuyendo su altura, biomasa y contenido en clorofila y proteínas. Numerosos compuestos fenólicos, conocidos por su fitotoxicidad, como ácidos fenólicos (gálico, clorogénico, cafeico, vainillico, *p*-cumárico, siríngico y ferúlico) fueron identificados en los diferentes extractos y en el suelo enmendado con restos de *C. album* (Batish *et al.*, 2006a).

Asimismo, existen numerosos estudios sobre los efectos fitotóxicos o alelopáticos de diferentes especies para el control de *C. album*. Extractos acuosos de hojas de *Helianthus annuus* L. redujeron la incidencia de *C. album* en campos de trigo (Anjum y Bajwa, 2007). Residuos de *Secale cereale* L. controlaron la germinación y el crecimiento de *C. album* (Barnes *et al.*, 1986; Tabaglio y Gavazzi, 2006), sin embargo en otros ensayos no mostraron efecto sobre esta arvense (Tabaglio *et al.*, 2008). Entre 25 aceites esenciales probados, los de *Thymus vulgaris* L., *Satureja hortensis* L., *Cinnamomun zeylanicum* L. y *Syzigium aromaticum* L., mostraron mayores efectos fitotóxicos sobre *C. album* (Tworkoski, 2002). El aceite esencial de *Satureja montana* L. impidió completamente la germinación de *C. album* y el de *T. vulgaris* la redujo drásticamente en ensayos *in vitro* (Angelini *et al.*, 2003). El aceite esencial de *Origanum acutidens* inhibió completamente la germinación y el crecimiento de *C. album* (Kordali *et al.*, 2008) en ensayo realizado con macetas en cámara de cultivo.



Chenopodium album L.

2.3.2.4. *Conyza canadensis* (L.) Cronq.

C. canadensis (familia Compuestas) es una planta anual, cosmopolita (Weaver, 2001; Basu *et al.*, 2004), nativa de Norteamérica (Cronquist, 1943). Fue introducida en Europa hace unos 350 años, donde se ha convertido en una de las especies más abundantes (Thebaud y Abbott, 1995), considerándose la planta de origen americano más completamente naturalizada en Europa (Frankton y Mulligan, 1987).

En todo el mundo, *C. canadensis* es una arvense importante en más de 40 cultivos (Holm *et al.*, 1997). Infesta huertos, viñedos, campos de maíz, soja y algodón, especialmente aquellos donde se emplean técnicas de no laboreo o laboreo de conservación, y pastos (Kapusta, 1979; Buhler, 1992; Wiese *et al.*, 1995). También es común en cultivos de cebolla (*Allium cepa* L.) y zanahoria (*Daucus carota* L.), en suelos orgánicos, particularmente en ausencia de rotación de cultivos (Leroux *et al.*, 1996).

Algunas plagas de cultivos se hospedan en *C. canadensis* (Weaver, 2001; Zelaya *et al.*, 2007). Sus hojas causan irritación en la piel a algunos individuos y a los caballos (Frankton y Mulligan, 1987).

Se ha empleado *C. canadensis* en la medicina tradicional (Holm *et al.*, 1997), como homeostática, astringente y diurética, y para el tratamiento de la disentería y diarrea (Jan *et al.*, 2010). Sus extractos acuosos han sido utilizados contra la hipertensión (Lasserre *et al.*, 1983). La planta contiene una variedad de flavonoides y taninos, además de aceite esencial (Strzelecka y Glinkowska, 1981; Czeczot *et al.*, 1990; Lis y Góra, 2000).

C. canadensis ha desarrollado resistencias a los herbicidas amidas, bipyridilos, glicinas (glifosato), imidazolinas, sulfonilureas y triazinas, en más de 10 países en todo el mundo, por lo que es considerada una de las 10 arvenses resistentes a herbicidas de mayor importancia económica (Weaver, 2001; Basu *et al.*, 2004; Feng *et al.*, 2004; Heap, 2006).

Existen algunos trabajos sobre la actividad alelopática de extractos de *C. canadensis* sobre la germinación y el crecimiento de otras especies, pero la bibliografía es escasa y reciente (Shaukat *et al.*, 2003). No tenemos conocimiento de trabajos previos sobre los efectos fitotóxicos de aceites esenciales o extractos acuosos de plantas para el control de *C. canadensis*.

2.3.2.5. *Parietaria judaica* L.

P. judaica (familia Urticáceas) es una planta ruderal y viaria, de hábitat saxícola y riparia de ambientes urbanos, hallándose con frecuencia adosada a paredes y muros, y en suelos nitrificados. Se encuentra ampliamente distribuida en el sudoeste de Asia, el sur y oeste de Europa y en la región Mediterránea, e introducida en Norteamérica (Flora Europea, 2005). Recientemente se ha incorporado como arvense debido a cambios en las técnicas de cultivo, como el empleo del no laboreo.

P. judaica es una de las fuentes más importante de polen alérgeno en la zona Mediterránea (Stumvoll *et al.*, 2003; Fotiu *et al.*, 2011). La mayoría de trabajos existentes sobre esta especie han sido llevados a cabo para caracterizar los alérgenos presentes en su polen (Ford *et al.*, 1986; Costa *et al.*, 1994; Duro *et al.*, 1996; Stumvoll *et al.*, 2003), además de estudiar distintos factores que condicionan la concentración del mismo en el ambiente (Fornaciari *et al.*, 1992; Galán *et al.*, 2000; Fotiu *et al.*, 2011).

P. judaica crece abundantemente en zonas urbanas, industriales y terrenos baldíos. Produce gran cantidad de semillas, con buena dispersión, y germina en un amplio rango de temperaturas. Presenta plasticidad fenotípica y compite con otras especies, excluyéndolas. Ofrece resistencia a herbicidas. Los escasos trabajos existentes sobre el control de *P. judaica* indican que son necesarias aplicaciones repetidas para evitar su recrecimiento (Bass y Clements, 1990).

En la medicina tradicional se ha empleado *P. judaica* como lenitivo intestinal, antiequimótico y contra los dolores reumáticos (Leporatti y Corradi, 2001).

No ha sido estudiado su potencial alelopático sobre otras especies, ni los efectos alelopáticos o fitotóxicos de otras especies sobre ella.



Conyza canadensis (L.) Cronq



Parietaria judaica L.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal.

3.1.1. Arvenses.

Con objeto de obtener semillas para la realización de ensayos, se recogieron plantas en estado de fructificación de las especies *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L., *Chenopodium album* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronq. y *Parietaria judaica* L. entre octubre de 2005 y agosto de 2008 de campos de cultivo situados en Puzol, Sagunto, Sinarcas, Sollana y Valencia (provincia de Valencia, España), y en Villavieja y Vall d'Alba (provincia de Castellón, España). Plantas de *Conyza canadensis* (L.) Cronq. también fueron recolectadas en campos de Bagheria (provincia de Palermo, Sicilia, Italia) en octubre de 2009. Durante 15 días las plantas se secaron en laboratorio, a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajeron las semillas, que fueron seleccionadas, eliminando las que tuvieron un tamaño, color, forma o estado de maduración anómalo. Las semillas se conservaron en placas Petri de 9 cm de diámetro selladas con Parafilm, y se hicieron dos lotes con semillas de cada planta, conservándose el primero a temperatura ambiente (para evitar la aparición de latencias debido al frío) y el segundo en nevera a 4°C, hasta el momento de su utilización.

3.1.2. Especies fuente de aceites esenciales y extractos acuosos.

Para la extracción de aceites esenciales y obtención de extractos acuosos se recolectaron partes aéreas de *Lantana camara* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. y *Eriocephalus africanus* L. de rotondas y jardines de la ciudad de Valencia y de Burjasot (provincia de Valencia, España) entre mayo de 2005 y junio de 2009. Con el mismo propósito, partes aéreas de *Cistus ladanifer* L. fueron recolectadas de la Sierra de Guadarrama (San Lorenzo del Escorial, provincia de Madrid, España) entre junio de 2006 y junio de 2009 y partes aéreas de *Artemisia gallica* Willd. se recolectaron de las marjales de Puzol (provincia de Valencia, España) y Torreblanca (provincia de Castellón, España) entre enero de 2007 y junio de 2009.

Con el fin de obtener sus aceites esenciales, se recolectaron partes aéreas de *Artemisia annua* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. y *Rosmarinus officinalis* L. en septiembre-octubre de 2009 en Sparacia (Provincia de Agrigento, Sicilia, Italia). Con el mismo fin fueron recolectadas partes aéreas de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link en junio de 2006, en plena floración, en Enna (provincia de Enna, Sicilia, Italia) y en enero de 2010, en estado vegetativo, en Riesi (provincia de Caltanissetta, Sicilia, Italia), y partes aéreas de *Tagetes lemmonii* A. Gray se recolectaron en enero de 2010 en Bagheria (provincia de Palermo, Italia, Sicilia).

Tanto los aceites esenciales como los extractos acuosos se obtuvieron de forma inmediata, a partir de planta fresca.

3.2. Aceites esenciales procedentes de muestras comerciales y compuestos patrón utilizados.

Se utilizaron en ensayos *in vitro*, para la evaluación de su potencial herbicida, aceites esenciales de *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér., *Thymus vulgaris* L. y *Origanum vulgare* L. procedentes de muestras comerciales de la casa Titolchimica. Asimismo se utilizaron los compuestos patrón eucaliptol, carvacrol y eugenol, procedentes de muestras comerciales de las casas Titolchimica, Fluka (Sigma-Aldrich) y Carlo Erba respectivamente, para la evaluación de su potencial herbicida *in vitro*.

3.3. Obtención y rendimiento de aceites esenciales.

En las especies *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer* y *A. gallica* los aceites esenciales se obtuvieron a partir de las hojas frescas, en el resto de especies, a partir de las partes aéreas.

Para la obtención de los aceites esenciales de especies recogidas en España se utilizó un aparato tipo Clevenger, y matraces redondos de 2 y 4 l. Se introdujo en los matraces el material fresco, previamente pesado en balanza de precisión, y se añadieron 1000 ó 2000 ml de agua destilada, dependiendo en cada caso de la cantidad de muestra procesada. Mediante una manta calefactora se aplicó calor al matraz redondo, generándose vapor de agua, que arrastró los componentes volátiles de la droga, condensándose en el refrigerante, y pasando al tubo colector graduado, donde se separó el aceite esencial. Este proceso se mantuvo durante al menos 3h, finalizando la destilación cuando se observó que la cantidad de aceite esencial destilado no aumentó en un periodo de 30 minutos.



Clevenger



Extractor Albrigi

Para la obtención de los aceites esenciales de especies recogidas en Italia se utilizó un extractor de aceites esenciales de 20 l de la casa Albrigi Luigi. Se llenó el fondo del extractor con agua de uso corriente, introduciéndose el material vegetal. Una vez cerrado el extractor herméticamente, era calentado mediante llama generada por gas butano, produciéndose vapor de agua, que arrastraba los componentes

volátiles de la droga. Éstos se condensaban al pasar por el refrigerante, recogiendo-se el aceite esencial en el tubo colector. Este proceso se mantuvo durante al menos 3h, finalizando la destilación cuando se observó que la cantidad de aceite esencial destilado no aumentó en un periodo de 30 minutos.

El rendimiento medio expresado en v/w (volumen de aceite obtenido en mililitros, por gramos de planta destilados) de los aceites esenciales obtenidos de cada especie se recoge en la Tabla 1.

Todos los aceites esenciales obtenidos se conservaron en nevera a 4°C.

Tabla 1. Rendimiento medio de los aceites esenciales obtenidos.

Especie	Rendimiento (v/w)
<i>L. camara</i>	0.04
<i>E. camaldulensis</i> Valencia	0.71
<i>E. camaldulensis</i> Palermo	0.31
<i>E. africanus</i>	0.43
<i>C. ladanifer</i>	0.27
<i>A. gallica</i> Puzol	0.04
<i>A. gallica</i> Torreblanca	0.10
<i>A. annua</i>	0.47
<i>L. angustifolia</i>	2.00
<i>R. officinalis</i>	0.61
<i>T. capitatus</i> en floración	2.49
<i>T. capitatus</i> en estado vegetativo	0.10
<i>T. lemmonii</i>	1.10

3.4. Determinación de la composición de aceites esenciales.

Para analizar la composición química, se preparó una dilución con hexano al 10% de cada muestra de aceite esencial obtenido. La composición cuantitativa se analizó por cromatografía de gases y la composición cualitativa se analizó por cromatografía de gases-espectrometría de masas.

3.4.1. Composición cuantitativa. Cromatografía de gases.

La cromatografía de gases fue realizada utilizando un cromatógrafo modelo Clarus 500GC Perkin-Elmer, equipado con un detector de ionización de llama (FID), una columna capilar Hewlett-Packard HP-1 (metil silicona) de 30 m de longitud, 0.2 mm de diámetro interno y 0.33 µm de espesor de película.

El programa de temperatura de la columna utilizado fue 60°C durante cinco minutos, con un gradiente de 3°C/min hasta llegar a 180°C, a continuación se empleó un gradiente de 20°C/min hasta llegar a 280°C, manteniendo esta temperatura durante diez minutos.

El gas portador, fue helio a un flujo de 1 ml/ min. El FID fue mantenido a una temperatura de 250°C y el inyector a 220°C.

Los índices de retención de Kovats, empleados para identificar los compuestos, fueron calculados usando una mezcla de hidrocarburos C₈-C₃₂, que se cromatógrafió cuando se analizaron las muestras. Una vez obtenidos los tiempos de retención, expresados en minutos, de cada uno de los componentes del aceite esencial, se determinó el índice de Kovats a partir de la siguiente fórmula:

$$IK = 100 * (n^{\circ} C HC_{n-1} + [(\log TR X - \log TR HC_{n-1}) / (\log TR HC_{n+1} - \log TR HC_{n-1})])$$

Siendo:

n^o C HC_{n-1}: número de carbonos del hidrocarburo anterior al compuesto

TR X: tiempo de retención del compuesto

TR HC_{n-1}: tiempo de retención del hidrocarburo anterior al compuesto

TR HC_{n+1}: tiempo de retención del hidrocarburo posterior al compuesto

3.4.2. Composición cualitativa. Cromatografía de gases-espectrometría de masas.

La cromatografía de gases-espectrometría de masas se realizó con un aparato Varian Saturn 2000 equipado con una columna capilar Varian C.S. VA-5MS de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película. El modo de inyección empleado fue en split con un ratio de 1:25.

Los espectros de masas fueron obtenidos dentro de un rango de masas (m/z) de 28-400 u.m.a., con un voltaje de ionización de 70 eV.

Se usaron las mismas condiciones de trabajo que para el cromatógrafo de gases.

Junto con las muestras se cromatógrafió una mezcla de hidrocarburos C₈-C₃₂ para calcular posteriormente los índices de retención de Kovats, de la forma descrita en el apartado anterior.

Los compuestos fueron identificados por su espectro de masas (Adams, 2007), confirmando su identidad con los índices de Kovats y comparando sus espectros de masas y sus tiempos de retención con otros de muestras patrón o con datos disponibles en la librería NIST 98 y en la literatura.

3.5. Obtención de extractos acuosos.

Los extractos acuosos se obtuvieron siguiendo el método descrito por Pérez *et al.* (2002). Para obtener los extractos acuosos necesarios para los ensayos *in vitro*, se maceraron 20 g de hojas de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer* o *A. gallica* con 200 ml de agua destilada introduciéndose a continuación en un baño a 80°C durante 15 minutos. A continuación se filtró la solución acuosa obtenida, extrayéndose de nuevo el marco con 100 ml de agua destilada en baño maría a 80°C durante otros 15 minutos. Se volvió a filtrar y se reunieron los filtrados obtenidos, centrifugándolos a 3000 rpm durante 10 minutos. No se obtuvo

sedimento en ninguno de los extractos preparados. El extracto obtenido se consideró la concentración básica (100%). Se conservaron los extractos en congelador a -40°C hasta el momento de su aplicación en los ensayos. Para la preparación de las concentraciones de ensayo, se diluyó con agua destilada el extracto original (100%), obteniéndose las concentraciones del 50, 30 y 10%.

Los extractos acuosos utilizados en los ensayos de invernadero y campo se obtuvieron siguiendo el mismo protocolo, pero aumentando las cantidades de planta (en este caso, *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* y *C. ladanifer*) y agua, siempre en las mismas proporciones. En este caso, los extractos no se centrifugaron, ya que al prepararlos para los ensayos *in vitro* se comprobó que no dejaban sedimento.



Diferentes etapas del proceso de obtención de extractos acuosos

3.6. Determinación de la composición de extractos acuosos.

Los extractos acuosos fueron liofilizados y se prepararon dos muestras de cada uno de ellos a una concentración de 3 mg/ml, una en agua y otra en metanol. Se analizó la composición de los extractos acuosos mediante HPLC-MS (High Performance Liquid Chromatography) utilizando un sistema Waters Acquity HPLC-PDA (Waters Corp., Milford, USA), acoplado a un Q-TOF espectrómetro de micromasas. El sistema estaba equipado con una bomba de disolventes binaria, un inyector de muestras automático, un compartimento para columnas y un detector PDA 2996, conectado al software Waters Masslynx 4.1. Se utilizó una columna Acquity BEH C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 μm) a 30°C . La fase móvil estaba constituida por ácido fórmico al 0.1% en agua ultrapura (1:1.000, v/v, fase A) y acetonitrilo al 0.1% en ácido fórmico (1:1.000, v/v, fase B). El gradiente utilizado fue 100% a 80% A en 3 minutos, 80% a 50% A en 7 minutos, 50% a 0% A en 3 minutos, manteniendo en 100% B 1 minuto y volviendo a 100% A en 2 minutos. El flujo fue de 0.2 ml/min. La temperatura del inyector de muestras se mantuvo a 20°C y el volumen de inyección fue de 5 μl .

Los espectros ultravioleta fueron adquiridos entre 210 y 500 nm con una resolución de 1.2 nm y 20 puntos/segundo de velocidad de muestreo.

El análisis de los espectros de masas fue llevado a cabo mediante ionización por electrospray en modo positivo. El espectrómetro de masas fue calibrado con formiato de sodio (10 ng/μl en 90:10 propan-2-ol:agua).

Las condiciones de análisis fueron las siguientes: voltaje capilar 3.0 kV, voltaje de cono 30 eV, temperatura de desolvatación 300°C, temperatura de la fuente 120°C, flujo de gas en el cono 50 l/h, flujo de gas de desolvatación 650 l/h, energía de colisión 10 eV.

Los espectros de masas fueron adquiridos en modo centroide, en un rango de exploración de relación masa-carga 100 a 1.400, con un tiempo de exploración de 0.3 segundos y un tiempo entre exploraciones de 0.1 segundos.

3.7. Ensayos de actividad fitotóxica *in vitro*.

En los primeros ensayos *in vitro* realizados, en concreto los de evaluación del potencial herbicida de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. album*, se utilizó una metodología distinta a la empleada en todos los demás ensayos *in vitro*. En los primeros, se evaluó de forma independiente (en 2 ensayos distintos) los efectos de los extractos acuosos frente a la germinación y el crecimiento de dichas arvenses, mientras que en los demás tratamientos se evaluaron ambos efectos de forma conjunta (un único ensayo). También el método de medición de las plántulas fue distinto en ambos casos, aunque se evaluó siempre la misma variable (longitud de la plántula, considerada como longitud del coleoptilo más longitud de la radícula). Ambos métodos se describen detalladamente a continuación.

3.7.1. Evaluación del potencial de inhibición de la germinación.

Para llevar a cabo los ensayos de inhibición de la germinación se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. album*) en placas Petri de 9 cm de diámetro. Como sustrato se utilizaron dos discos de papel de filtro de 9 cm de diámetro y 50 g/m² de espesor, y otros dos cubrieron las semillas, siendo impregnados con 4 ml de agua destilada (control) o de la solución correspondiente (10, 30, 50 y 100%) de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* o *E. africanus*. Las placas se sellaron con Parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) por cada concentración de los diferentes extractos, para cada una de las 3 especies arvenses.

Las placas con semillas de *A. hybridus* se incubaron en cámara de germinación (marca Selecta, modelo 484) a una temperatura constante de 27.0±0.1°C, con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (Steckel *et al.*, 2004).

Las placas con semillas de *P. oleracea* y *C. album* se incubaron en cámara de germinación (marca ASL, modelo F4), a una temperatura de 30.0±0.1°C durante 16 horas de luz y 20.0±0.1°C durante 8 horas de oscuridad (Angelini *et al.*, 2003).

Las condiciones de incubación fueron seleccionadas en base a la bibliografía existente y a ensayos preliminares.

El efecto de los extractos acuosos sobre la germinación de las arvenses se evaluó registrando las semillas germinadas en cada placa. La primera lectura se realizó a los 3 días de incubación en el caso de *A. hybridus* y *P. oleracea* y a los 5 en el caso de *C. album* (ya que su germinación fue más lenta). Las posteriores lecturas se hicieron cada 2 días, durante un total de 10 días. Cada vez que se leyeron las placas se sellaron de nuevo con Parafilm, no añadiéndose agua ni las correspondientes soluciones acuosas durante el ensayo.

3.7.2. Evaluación del potencial de inhibición del crecimiento.

Los ensayos de inhibición del crecimiento se realizaron sobre plántulas de la arvense correspondiente (*A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. album*) con una longitud de radícula de entre 1 y 5 mm. Para obtener dichas plántulas, previamente se sembraron 50 placas con 20 semillas de cada especie arvense, en las condiciones descritas para los controles de los ensayos de inhibición de la germinación. En el caso de las semillas de *A. hybridus* a los 2 días de incubación, a los 3, si se trataba de *P. oleracea*, y a los 5, en *C. album*, se consiguieron plántulas con estas características. Para el ensayo de inhibición del crecimiento se dispusieron 10 plántulas en placas Petri en las mismas condiciones descritas anteriormente para los ensayos de inhibición de la germinación, realizándose 5 repeticiones (50 plántulas) por cada concentración de los correspondientes extractos, para cada una de las arvenses ensayadas.

Para evaluar la actividad de los extractos acuosos sobre el crecimiento de las plántulas se midió la longitud de las mismas (hipocotilo más radícula) con un pie de rey digital. La primera medida se efectuó a los 3 días de incubación. Posteriormente se midieron las plántulas cada 2 días, durante un total de 7 días. Cada vez que se efectuó la medida, las placas se sellaron con Parafilm. No se añadió agua ni las correspondientes soluciones acuosas durante el ensayo.

3.7.3. Evaluación del potencial de inhibición de la germinación y el crecimiento en un único ensayo.

Se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* o *P. judaica*) en las mismas condiciones descritas para los ensayos anteriores, añadiéndose 4 ml de agua destilada (control y ensayos con aceites esenciales y compuestos patrón) o de la solución correspondiente (10, 30, 50 y 100%) de los extractos acuosos. Los aceites esenciales y los compuestos patrón fueron añadidos en volúmenes de 0 (control, sólo con agua destilada), 0.5, 1, 2 y 4 μ l, obteniéndose concentraciones de 0.125, 0.25, 0.5 y 1 μ l/ml respectivamente. Las placas fueron selladas con Parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) por cada tratamiento.

En los ensayos realizados en Valencia, las semillas se incubaron en dos cámaras de germinación (una, marca ASL, modelo F4 y otra marca CLIMAS modelo

APG-GROW), a una temperatura de $30.0\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ durante 16 horas de luz y $20.0\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ durante 8 horas de oscuridad.

En los ensayos realizados en Palermo (ensayos de actividad herbicida de los aceites esenciales de *E. camaldulensis* de Palermo, *A. annua*, *L. angustifolia*, *R. officinalis*, *T. capitatus* (tanto floración como estado vegetativo), *P. odoratissimum*, *T. vulgaris* y *O. vulgare*, y de los compuestos eucaliptol, carvacrol y eugenol sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*) las semillas se incubaron en cámara de cultivo WTB-Binder a una temperatura constante de $25.0\pm 0.1^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Para evaluar la actividad herbicida tanto de los aceites esenciales y sus compuestos patrón, como de los extractos acuosos, se hicieron lecturas de las placas, a los 3 (sólo en *A. hybridus* y *P. oleracea*, al iniciar la germinación antes que las demás especies arvenses), 5, 7, 10 y 14 días de incubación. Se registró el número de semillas germinadas y se obtuvieron imágenes digitales de las plántulas crecidas, para posteriormente medir su longitud (coleoptilo más radícula), procesando las imágenes mediante el programa Image Tool. Cada vez que se leyeron las placas se sellaron de nuevo con Parafilm, no añadiéndose agua, soluciones de los extractos acuosos ni aceites esenciales o compuestos patrón durante los ensayos.

3.7.4. Evaluación de la reversibilidad de los efectos inhibitorios producidos por aceites esenciales y compuestos patrón *in vitro*.

Se llevó a cabo una prueba preliminar con semillas de arvenses que habían sido tratadas con aceites esenciales y compuestos patrón (ensayos descritos en el apartado anterior), con el fin de evaluar la reversibilidad de los efectos fitotóxicos de los mismos. Se emplearon semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* previamente tratadas con aceites esenciales de *E. camaldulensis* (Sicilia), *T. capitatus* en estado vegetativo, *P. odoratissimum*, *O. vulgare*, y con carvacrol y eugenol. Para ello, una vez finalizado el ensayo de evaluación de la actividad herbicida *in vitro*, las semillas tratadas con aceites esenciales y compuestos puros que no habían germinado, fueron transferidas a agua destilada, para estudiar si el efecto inhibitorio ejercido por estos aceites o por los compuestos puros sobre su germinación era temporal, mientras durase la exposición a los mismos, o perduraba en su ausencia. Se colocaron las semillas en placas Petri con agua destilada en las mismas condiciones de preparación e incubación descritas para los controles de los ensayos anteriores, registrándose el número de semillas germinadas a los 20 días.

3.8. Ensayos de actividad fitotóxica en invernadero.

3.8.1. Evaluación del potencial herbicida.

Se realizaron 2 ensayos, en los invernaderos de la Universidad Politécnica de Valencia, uno en los meses de junio a septiembre de 2008, en el que se evaluó el potencial herbicida de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus*, y otro en los meses de julio a septiembre de 2009, en el que se evaluó el

potencial herbicida del extracto acuoso de *C. ladanifer* y de los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *E. africanus*.

En ambos ensayos se prepararon 3 bandejas (56.5 x 36.5 x 12 cm) por cada tratamiento y 3 control (agua), con una capa de 5 cm de espesor de perlita en la base, y una capa superior de 5 cm de suelo vegetal procedente de cultivo de cítricos abandonado. En el segundo ensayo se añadieron, además de las mencionadas, 3 bandejas control con Tween (agua más Tween 20), producto utilizado para emulsionar los aceites esenciales (Angelini *et al.*, 2003). Previamente se verificó *in vitro* que la dosis de Tween 20 empleada para emulsionar los aceites esenciales no tenía efectos sobre la germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Se realizó una única aplicación de los siguientes tratamientos: 4l de agua (controles), 4l de agua más Tween 20 a la concentración de 100 mg/l (control más Tween 20), 4l de extracto a la concentración del 100%, 4l de agua más aceite esencial a la concentración de 0.5 µl/ml, para llevar el suelo hasta la capacidad de campo. Una vez por semana, se regó con agua destilada y se registraron e identificaron las arvenses desarrolladas. Los ejemplares arvenses se recolectaron durante la floración y se evaluó su peso fresco y seco. Durante ambos ensayos se registraron los datos de temperatura y humedad relativa del invernadero con una sonda HOBO Pro v2.



Preparación ensayos de invernadero

3.8.2. Evaluación de la fitotoxicidad de aceites esenciales sobre cultivos.

En los invernaderos de la Unità di ricerca per il recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee (CRA-SFM) de Bagheria (Palermo) se llevó a cabo un ensayo para evaluar la posible toxicidad de los aceites esenciales de *E. camaldulensis* (Sicilia), *L. angustifolia*, *T. capitatus* en estado vegetativo, *P. odoratissimum* y *O. vulgare*, y de carvacrol y eugenol sobre los cultivos *Vicia faba* L. var. *minor* (Harz) Beck, *Triticum durum* Desf., *Hordeum vulgare* L., *Avena sativa* L., *Cicer arietinum* L., *Vicia sativa* L. y *Lens culinaris* Medik.

Se preparó 1 semillero por cada cultivo, en bandejas de 40 alveolos de poliestireno expandido, disponiendo 3 semillas en cada alveolo. Cuando las semillas germinaron y se dispuso de plántulas de los distintos cultivos con al menos 2 hojas (a

las 3 semanas después de montar los semilleros) se realizaron los tratamientos. Para ello se prepararon soluciones con los aceites esenciales y los compuestos patrón utilizados en agua, a una concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$, utilizando como emulsionante aceite de soja al 40% “Fitoil”, de Agribiotec.

Los semilleros tenían 8x5 filas. En cada una de las 8 filas se realizaron los distintos tratamientos (sorteados al azar), habiendo 5 repeticiones, con 2-3 plántulas cada una. Se aplicaron las soluciones de los aceites esenciales y carvacrol y eugenol con un pulverizador, mojando bien todas las plántulas.

Para evaluar los posibles efectos fitotóxicos de los aceites esenciales o los compuestos patrón sobre los diferentes cultivos, se realizó una inspección minuciosa de las plántulas a las 24 y 48h tras la aplicación de los tratamientos.



Semilleros de cultivos para ensayo de fitotoxicidad y aplicación de los tratamientos

3.9. Ensayo de actividad herbicida en campo.

Se realizó un ensayo de campo, para evaluar la actividad herbicida de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus*, que se llevó a cabo en una parcela del IVIA situada en Moncada (Valencia), en los meses de marzo a agosto de 2008.



Montaje ensayo de campo. Primer tratamiento.

El suelo, de textura franca, fue homogeneizado mediante labor mecánica de 25 cm de profundidad. Se estableció un diseño experimental con cuadros de 0.25 m² dispuestos al azar (3 repeticiones por tratamiento y 3 control). Se aplicó mediante pulverización un primer tratamiento en preemergencia (17.03.2008) hasta llevar el

suelo a la capacidad de campo a una profundidad de 10 cm. Se precisaron 10 l de extracto o agua en cada cuadro. Posteriormente se realizaron otros 2 tratamientos, con intervalos de 15 días, aplicando 5 l por cuadro. Periódicamente se evaluó la germinación y se identificaron las arvenses germinadas viables. El muestreo de arvenses se realizó en la época de floración y se determinó su rendimiento en peso fresco y seco.

3.10. Tratamiento y análisis estadístico de datos.

Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos, verificando previamente la homocedasticidad de los datos mediante los test de Cochran, Bartlett y Levene.

Los porcentajes de germinación fueron transformados antes de proceder a realizar el ANOVA mediante la fórmula $y = \arccos \sqrt{x}$, donde x era el porcentaje de germinación en tanto por uno, para satisfacer los requerimientos de homocedasticidad. En algunos casos fue necesario transformar los datos de longitud de plántulas a $y = \log(x+1)$, para cumplir con este requisito.

Los resultados de los ensayos de invernadero y campo (número de plantas desarrolladas, peso fresco y seco) también fueron sometidos a un análisis de la varianza, comprobando previamente su homocedasticidad.

El ANOVA se realizó utilizando el test de comparación múltiple de Fisher (intervalos LSD, Least Significant Difference) para la separación de medias, con un nivel de confianza del 95% ($P \leq 0.05$). Las diferencias significativas entre los distintos tratamientos se han indicado con letras diferentes en la misma columna, en todas las tablas de resultados.

En la presentación de los resultados, las medias se acompañan, tanto en tablas como en figuras, del correspondiente valor del error estándar.

4. RESULTADOS

4.1. Composición de los aceites esenciales.

4.1.1. *Lantana camara* L.

La composición del aceite esencial de *L. camara* varía con el origen geográfico de la planta que lo elabora. Anteriormente no se había determinado la composición de aceite de *L. camara* obtenido a partir de planta desarrollada en España. Fueron identificados 34 compuestos, representando el 96.22% de su composición (Tabla 2). Este aceite se caracterizó por la ausencia de monoterpenos, siendo los sesquiterpenos hidrocarbonados el grupo más importante tanto desde el punto de vista cualitativo (con 20 compuestos identificados) como cuantitativo (88.96%). A este grupo pertenecieron los componentes mayoritarios del aceite: α -curcumeno (23.09%), β -cariofileno (17.54%), γ -curcumeno (14.64%) y γ -muuroleno (12.54%). El resto de compuestos identificados fueron 12 sesquiterpenos oxigenados (6.21%) y 2 diterpenos oxigenados (1.05%).

Tabla 2. Composición del aceite esencial de *Lantana camara* L. (Valencia).

Compuesto	IK	Área (%)	Compuesto	IK	Área (%)
Sesquiterpenos hidrocarbonados		88.96	Sesquiterpenos oxigenados		6.21
α -Copaeno	1378	0.25 \pm 0.17	Hidrato de <i>cis</i> -sesquisabineno	1556	t
β -Bourboneno	1388	0.24 \pm 0.16	<i>E</i> -Nerolidol	1565	t
β -Elemeno	1393	3.45 \pm 0.65	Germacreno-D-4-ol	1577	t
Italiceno	1404	0.78 \pm 0.48	Espatuleno	1581	0.62 \pm 0.02
Sesquityeno	1405	0.84 \pm 0.17	Óxido de cariofileno	1586	1.63 \pm 0.56
α -Cedreno	1413	0.64 \pm 0.07	Cedrol	1600	0.27 \pm 0.03
β -Cariofileno	1419	17.54 \pm 0.56	Epóxido de humuleno	1611	0.49 \pm 0.06
β -Copaeno	1432	0.05 \pm 0.00	Zingibereno	1611	1.26 \pm 0.26
α - <i>trans</i> -Bergamoteno	1436	t	<i>tau</i> -Cadinol	1643	1.27 \pm 0.10
<i>cis</i> - β -Farneseno	1445	0.73 \pm 0.01	α -Cadinol	1658	0.29 \pm 0.04
α -Humuleno	1457	7.43 \pm 0.64	<i>epi</i> - β -Bisabolol	1674	0.39 \pm 0.17
α -Acoradieno	1467	0.22 \pm 0.02	<i>epi</i> - α -Bisabolol	1687	t
β -Acoradieno	1470	t	Diterpenos oxigenados		1.05
γ -Muuroleno	1479	12.54 \pm 1.43	Fitol	1945	0.96 \pm 0.32
α -Curcumeno	1480	23.09 \pm 2.10	Fitol isómero	1974	0.09 \pm 0.02
γ -Curcumeno	1482	14.64 \pm 1.06			
α -Muuroleno	1500	0.35 \pm 0.03	TOTAL IDENTIFICADO		96.22
β -Bisaboleno	1507	0.67 \pm 0.06			
β -Curcumeno	1518	4.83 \pm 0.38			
β -Sesquifelandreno	1525	0.68 \pm 0.04			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.04%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Los aceites esenciales de *L. camara* de diversos orígenes (India, Madagascar, Camerún, Brasil y Algeria) se caracterizan por presentar un alto contenido de com-

puestos sesquiterpénicos (Singh *et al.*, 1991; Möllenbeck *et al.*, 1997; Ngassoum *et al.*, 1999; Da Silva *et al.*, 1999; Khan *et al.*, 2002; Zoubiri y Baaliouamer, 2011), siendo los compuestos mayoritarios α -farneseno (29%) y germacreno-D (20.5%) en muestras de aceite esencial de *L. camara* de la India (Singh *et al.*, 1991; Khan *et al.*, 2002), β -cariofileno (19%) (Möllenbeck *et al.*, 1997) y davanona (15%) (Ngassoum *et al.*, 1999) en muestras de Madagascar, y ar-curcumeno (25%) en muestras de Camerún (Ngassoum *et al.*, 1999). En tres muestras de aceite esencial de *L. camara* de diferentes zonas de la región del Amazonas de Brasil se determinaron como compuestos mayoritarios limoneno (16.5%), germacreno-D (28.4%) y ar-curcumeno (31.9%) (Da Silva *et al.*, 1999), mientras que β -cariofileno (35.7%) fue el compuesto mayoritario en muestras de aceite esencial de *L. camara* de Algeria (Zoubiri y Baaliouamer, 2011).

No se encontraron compuestos monoterpénicos en el aceite esencial obtenido en España, sin embargo, el limoneno (16.5%), monoterpene hidrocarbonado, fue el componente mayoritario, junto con α -felandreno (16.4%) de la muestra A de Brasil (Da Silva *et al.*, 1999), que contuvo también grandes cantidades de sabineno (8.9%). El aceite esencial de *L. camara* de Camerún presentó monoterpenos tanto hidrocarbonados: sabineno (7.0%), α -pineno (5.0%) y β -pineno (3.9%), como oxigenados: 1,8-cineol (1.7%) y linalol (1.3%). Asimismo, se identificaron monoterpenos hidrocarbonados (sabineno y mirceno, 2.2 y 1.2 %, respectivamente) y oxigenados (1,8-cineol y linalol en porcentajes cercanos al 1%), además de grandes cantidades del sesquiterpene oxigenado davanona (7.3%) en el aceite esencial rico en compuestos sesquiterpénicos de *L. camara* de India (Rana *et al.*, 2005). El aceite esencial de *L. camara* de Algeria contenía sabineno (1.6%) y diversos monoterpenos, en cantidades muy pequeñas (por debajo del 1%).

4.1.2. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

El aceite esencial de *E. camaldulensis* se obtuvo de planta tanto de Valencia como de Sparacia. En el aceite esencial de Valencia se identificaron un total de 50 compuestos que representaron el 95.40% de su composición (Tabla 3). El mayor número de compuestos determinados fueron monoterpenos oxigenados (25), constituyendo un 19.86%, sin embargo, la fracción más abundante correspondió a los sesquiterpenos oxigenados (48.27%), destacando el espatulenol (41.46%) como compuesto mayoritario. Los monoterpenos hidrocarbonados constituyeron la siguiente fracción en importancia (14 compuestos identificados, 26.38%). A este grupo perteneció el segundo compuesto mayoritario encontrado, el *p*-cimeno (21.92%), mientras que el tercer compuesto más importante determinado fue el monoterpene oxigenado criptona (7.76%).

En el aceite esencial de *E. camaldulensis* procedente de Sparacia (Tabla 4), se identificaron 43 compuestos (95.62% de su composición). Al igual que en el aceite procedente de Valencia, la mayoría de compuestos identificados fueron monoter-

penos oxigenados (24 de un total de 43), representando el 35.38% de la composición del aceite y constituyendo el grupo más abundante. Los monoterpenos hidrocarbonados, con 12 compuestos determinados (30.54%) fueron la siguiente fracción en importancia.

Tabla 3. Composición del aceite esencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Valencia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		26.38	<i>m</i> -Cumenol	1230	0.10 ± 0.00
<i>α</i> -Tuyeno	931	0.27 ± 0.05	Aldehído cumínico	1242	1.17 ± 0.10
<i>α</i> -Pinoeno	939	1.29 ± 0.07	Carvona	1245	t
Tuya-2,4(10)-dieno	960	0.09 ± 0.01	Carvotanacetona	1249	0.07 ± 0.01
Verbeneno	967	t	Piperitona	1255	0.10 ± 0.00
Sabineno	977	t	<i>p</i> -Ment-1-en-7-al	1279	2.09 ± 0.47
<i>β</i> -Pinoeno	979	0.07 ± 0.00	<i>α</i> -Terpinen-7-al	1285	t
Mirceno	991	t	Timol	1293	0.38 ± 0.06
<i>α</i> -Felandreno	1006	0.10 ± 0.07	Carvacrol	1302	0.98 ± 0.11
<i>α</i> -Terpineno	1017	0.08 ± 0.05	3-oxo- <i>p</i> -Ment-1-en-7-al	1335	t
<i>p</i> -Cimeno	1026	21.92 ± 1.61	Sesquiterpenos hidrocarbonados		0.89
<i>o</i> -Cimeno	1028	1.21 ± 0.10	<i>allo</i> -Aromadendreno	1464	0.89 ± 0.21
Limoneno	1030	1.11 ± 0.17	Sesquiterpenos oxigenados		48.27
<i>γ</i> -Terpineno	1060	0.19 ± 0.08	10,11-epoxi-Calameneno	1492	0.59 ± 0.03
<i>m</i> -Cimeneno	1085	0.05 ± 0.02	Espatuleno	1581	41.46 ± 3.04
Monoterpenos oxigenados		19.86	Viridiflorol	1595	0.13 ± 0.02
Dehidro-1,8-cineol	993	t	Ledol	1604	0.76 ± 0.06
1,8-Cineol	1033	1.92 ± 0.32	Espatuleno isómero	1610	1.08 ± 0.19
Óxido de <i>cis</i> -linalol	1076	0.07 ± 0.01	<i>iso</i> -Espatuleno	1634	1.39 ± 0.30
Óxido de <i>trans</i> -linalol	1088	0.09 ± 0.06	<i>tau</i> -Muurolol	1645	0.48 ± 0.13
Linalol	1100	0.46 ± 0.19	<i>iso</i> -biciclogermacrenal	1734	1.92 ± 0.29
<i>α</i> -Tuyona	1106	0.07 ± 0.01	Otros		t
<i>cis</i> - <i>p</i> -Ment-2-en-1-ol	1126	0.09 ± 0.02	5-Metil-3-hexen-2-ona	896	t
<i>α</i> -Canfolenal	1130	0.39 ± 0.03	2-Nonanona	1092	t
<i>cis</i> - <i>p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol	1139	0.19 ± 0.03	TOTAL IDENTIFICADO		95.40
<i>trans</i> - <i>p</i> -Ment-2-en-1-ol	1143	0.36 ± 0.01			
Terpinen-4-ol	1180	2.56 ± 0.43			
Criptona	1185	7.76 ± 0.62			
<i>α</i> -Terpineol	1192	0.93 ± 0.15			
Mirtenal	1197	t			
Verbenona	1208	0.08 ± 0.01			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.04%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Tabla 4. Composición del aceite esencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Sparacia, Sicilia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		30.54	Sesquiterpenos hidrocarbonados		1.78
α -Tuyeno	931	0.68	β -Cariofileno	1419	0.39
α -Pino	939	1.88	<i>allo</i> -Aromadendreno	1464	1.39
Tuya-2,4(10)-dieno	960	0.20	Sesquiterpenos oxigenados		27.70
Sabineno	977	t	10,11-epoxi-Calameneno	1492	0.22
β -Pino	979	3.80	Espatulenol	1581	26.40
Mirceno	991	0.17	β -Atlantol	1711	0.59
α -Felandreno	1006	0.44	<i>iso</i> -Espatulenol	1634	0.49
α -Terpineno	1017	0.15	Otros		0.22
<i>p</i> -Cimeno	1026	19.58	Fenil-etil-3-metil butanoato	1492	0.22
Limoneno	1030	3.04	TOTAL IDENTIFICADO		95.62
γ -Terpineno	1060	0.36			
<i>p</i> -Cimeno	1093	0.24			
Monoterpenos oxigenados		35.38			
1,8-Cineol	1033	4.23			
Linalol	1100	0.62			
β -Tuyona	1118	0.18			
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1126	0.27			
α -Canfolenal	1130	t			
<i>trans</i> -Pinocarveol	1142	1.03			
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1143	t			
Alcanfor	1156	0.25			
Pinocarvone	1171	0.30			
Terpinen-4-ol	1180	4.95			
Criptona	1185	10.75			
α -Terpineol	1192	1.69			
Mirtenol	1199	0.42			
<i>cis</i> -Piperitol	1200	0.18			
<i>trans</i> -Carveol	1221	0.08			
<i>m</i> -Cumeno	1230	0.29			
Aldehído cumínico	1242	3.72			
Carvona	1245	0.22			
Piperitona	1255	0.13			
Felandral	1274	4.26			
α -Terpinen-7-al	1285	0.11			
<i>p</i> -cimen-7-ol	1294	0.78			
Carvacrol	1302	0.75			
3-oxo- <i>p</i> -Ment-1-en-7-al	1335	0.17			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.08%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

El compuesto mayoritario, al igual que en el aceite esencial procedente de Valencia, resultó ser el sesquiterpeno oxigenado espatulenol (26.40%). El segundo y tercer compuestos más abundantes también coincidieron con los identificados para el aceite procedente de Valencia, siendo *p*-cimeno (19.58%) y criptona (10.75%).

La composición del aceite esencial de *E. camaldulensis* de diferentes orígenes ha sido estudiada. Se pueden distinguir dos grupos de aceites con componentes distintos: los que contienen 1,8-cineol como compuesto mayoritario, que incluye *E. camaldulensis* de Mali, Mozambique, Nigeria, Egipto e Irán (Chalchat *et al.*, 2000; Pagula *et al.*, 2000; Oyediji *et al.*, 2000; Maximous, 2004; Sefidkon *et al.*, 2006) y los que contienen espatulenol, *p*-cimeno y criptona como compuestos principales, y pequeñas cantidades de 1,8-cineol, al que pertenecen ambos aceites de *E. camaldulensis* estudiados, siendo similares a *E. camaldulensis* del sur de Florida, Jerusalén y Grecia (Pappas y Sheppard-Hanger, 2000; Chalchat *et al.*, 2001; Tsiri *et al.*, 2003). Ambos tipos fueron identificados en clones de *E. camaldulensis* de Australia (Dunlop *et al.*, 2000). Recientemente ha sido estudiada la composición y variabilidad del aceite de *E. camaldulensis* de Cerdeña (Barra *et al.*, 2010), siendo muy diversa según la procedencia de las muestras, y presentando grandes fluctuaciones durante el estado vegetativo. Los componentes mayoritarios determinados fueron *p*-cimeno (27.8-42.7%), 1,8-cineol (4.1-39.5), β -felandreno (3.9-23.8%), espatulenol (2.1-15.5%) y criptona (3.2-10.2%).

4.1.3. *Eriocephalus africanus* L.

Un total de 60 compuestos fueron identificados en el aceite esencial de *E. africanus*, constituyendo el 96.68% de su composición (Tabla 5). Los monoterpenos oxigenados (con 12 compuestos identificados) representaron la fracción más abundante (64.17%), siendo la artemisia cetona (56.46%) el compuesto mayoritario. Sin embargo el mayor número de compuestos identificados (21), fueron sesquiterpenos oxigenados, constituyendo la segunda fracción en importancia (21.26%). A esta fracción pertenecen el segundo y tercer compuesto mayoritarios: intermedeol (9.59%) y γ -eudesmol (5.64%). Los componentes hidrocarbonados determinados en el aceite esencial fueron 10 monoterpenos hidrocarbonados (7.09%) y 7 sesquiterpenos hidrocarbonados (3.64%).

No existen muchos trabajos sobre la composición de este aceite esencial. De 6 poblaciones de *E. africanus* del Cabo (Sudáfrica) estudiadas, sólo en una de ellas se determinó la artemisia cetona (11.8%) como componente mayoritario del aceite esencial (Njenga, 2006). El resto de poblaciones presentaron espatulenol (9.5%-40.0%), santolina alcohol (29.9%) y 1,8.cineol (23.6%) como componentes mayoritarios. En el aceite esencial de 3 poblaciones de *E. africanus* de la provincia de Valencia se identificaron como compuestos mayoritarios artemisia cetona (56.46-56.58%), intermedeol (9.19-11.63%) y γ -eudesmol (4.26-5.64%) (Merle *et al.*, 2007).

Tabla 5. Composición del aceite esencial de *Eriocephalus africanus* L. (Valencia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		7.09	Germacreno-D-4-ol	1577	t
Santolina trieno	903	0.24 ± 0.00	Espatulol	1581	0.53 ± 0.23
Artemisia trieno	924	0.28 ± 0.02	Óxido de Cariofileno	1586	0.29 ± 0.04
α-Pineno	939	3.09 ± 0.35	β-Copaen-4-α-ol	1590	0.06 ± 0.03
Canfeno	954	t	Viridiflorol	1595	t
Sabineno	977	0.03 ± 0.01	Guaiol	1601	0.22 ± 0.10
β-Pineno	979	1.65 ± 0.05	10- <i>epi</i> -γ-Eudesmol	1625	0.02 ± 0.01
Mirceno	991	0.13 ± 0.01	1- <i>epi</i> -Cubenol	1630	0.02 ± 0.01
<i>p</i> -Cimeno	1026	1.67 ± 0.18	γ-Eudesmol	1635	5.64 ± 1.38
Limoneno	1030	t	Cariofila-4,8-dien-5-ol	1640	0.95 ± 0.15
γ-Terpineno	1060	t	tau-Cadinol	1643	t
Monoterpenos oxigenados		64.17	tau-Murolol	1645	0.89 ± 0.42
Yomogi alcohol	996	2.99 ± 0.17	β-Eudesmol	1650	0.03 ± 0.01
1,8-Cineol	1033	0.06 ± 0.00	α-Eudesmol	1655	0.05 ± 0.02
Artemisia cetona	1062	56.46 ± 1.99	Selin-11-en-4-α-ol	1661	0.03 ± 0.03
Artemisia alcohol	1082	1.71 ± 0.13	Intermedeol	1667	9.59 ± 0.89
<i>trans</i> -Pinocarveol	1141	0.55 ± 0.07	Cariofilenol	1672	0.12 ± 0.02
Óxido de Nerol	1161	t	Diterpenos oxigenados		t
Pinocarvona	1166	1.13 ± 0.15	Fitol	1945	t
Terpinen-4-ol	1180	0.03 ± 0.01	Otros		0.52
Artemisia cetona isómero	1186	0.68 ± 0.06	1-Octeno	793	0.07 ± 0.02
Mirtenal	1197	0.45 ± 0.02	1-Octen-3-ol	979	t
Mirtenol	1199	t	Hexanal	803	t
Acetato de geranilo	1380	0.11 ± 0.01	Acetato de butilo	813	t
Sesquiterpenos hidrocarbonados		3.64	7-Metil-1-octeno	852	0.24 ± 0.11
α-Copaeno	1378	0.17 ± 0.10	1-Noneno	889	0.04 ± 0.02
β-Cariofileno	1419	1.27 ± 0.50	Benzaldehído	966	0.03 ± 0.01
α-Humuleno	1457	0.09 ± 0.05	3-Octanona	984	0.10 ± 0.02
<i>allo</i> -Aromadendreno	1464	0.03 ± 0.03	Acetato de <i>cis</i> -3-Hexenilo	1006	0.04 ± 0.02
Biclogermacreno	1500	1.48 ± 0.29	TOTAL IDENTIFICADO		96.68
7- <i>epi</i> -α-Selineno	1522	0.30 ± 0.06			
δ-Cadineno	1526	0.30 ± 0.06			
Sesquiterpenos oxigenados		21.26			
Kesano	1530	0.65 ± 0.29			
Ligulóxido	1536	1.26 ± 0.03			
Elemol	1549	0.82 ± 0.37			
Ligulóxido isómero	1558	0.09 ± 0.04			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.01%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

4.1.4. *Cistus ladanifer* L.

En el aceite esencial de *C. ladanifer* se identificaron 75 compuestos (93.23%), gran parte de ellos oxigenados (Tabla 6). La fracción mayoritaria (49.31%) fue la constituida por los monoterpenos oxigenados, a la que pertenecía más de un tercio de los compuestos identificados (26). La siguiente fracción en importancia fue la de los sesquiterpenos oxigenados (22.42%), con 9 compuestos determinados. Los monoterpenos hidrocarbonados constituyeron el 13.97% del aceite esencial, con 12 compuestos identificados. Viridiflorol (14.82%), *trans*-pinocarveol (13.18%) y α -pineno (9.37%) fueron los componentes mayoritarios.

Se ha determinado la composición del aceite esencial de *C. ladanifer* de diferentes orígenes, siendo variables los compuestos mayoritarios. Los principales componentes identificados en una muestra comercial de aceite esencial de *C. ladanifer* producido en España fueron α -pineno (35%), canfeno (10%), *p*-cimeno (4%) y acetato de bornilo (3.7%) (Simon-Fuentes *et al.*, 1987). En el aceite esencial de plantas de *C. ladanifer* de origen español cultivadas en Córcega se determinaron como principales componentes α -pineno (39%), viridiflorol (11.8%), acetato de bornilo (3.1%) y ledol (3.3%) (Mariotti *et al.*, 1997). Se comparó el aceite esencial de dos variedades de *C. ladanifer* de Francia (Robles *et al.*, 2003), presentando diferencias significativas en la concentración de 8 compuestos. En ambas variedades se detectó la presencia de α -pineno y viridiflorol. Las muestras de *C. ladanifer* var. *albiflorus* contenían menores porcentajes de α -pineno, β -pineno, γ -terpineno y verbenona y mayores cantidades de benzaldehído, *p*-cimen-8-ol, ledol y viridiflorol que las muestras de *C. ladanifer* var. *maculatus*. En muestras de aceite esencial de *C. ladanifer* de Portugal (Gomes *et al.*, 2005) se determinaron como compuestos mayoritarios viridiflorol (13.6-17.4%), globulol (3.1-5.0%) y un alcohol sesquiterpénico desconocido (2.7-6.0%), así como el alcohol diterpénico 15-nor-labdan-8-ol (1.7-5.2%). Los principales constituyentes del aceite esencial de hojas de *C. ladanifer* del norte de Marruecos fueron viridiflorol (19.6%), acetato de bornilo (16.7%) y canfeno (12.3%) (Greche *et al.*, 2009).

4.1.5. *Artemisia gallica* Willd.

En el aceite esencial de *A. gallica* se identificaron un total de 54 compuestos, representando el 90.81% de su composición (Tabla 7). *A. gallica* elabora un aceite esencial rico en monoterpenos oxigenados (79.38%). A esta fracción pertenecieron la mayor parte de compuestos identificados (24), incluyendo los componentes mayoritarios, crisantenona (40.03%), filifolona (18.11%) y alcanfor (14.23%). Los sesquiterpenos oxigenados constituyeron la segunda fracción más abundante de este aceite esencial, con 3 compuestos identificados (4.51%), siendo también importante la fracción de los monoterpenos hidrocarbonados, con 8 compuestos determinados (3.65%).

Tabla 6. Composición del aceite esencial de *Cistus ladanifer* L. (Sierra de Guadarrama, Madrid).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		13.97	Viridifloreno	1494	0.35 ± 0.05
Triciclono	928	0.21 ± 0.11	α -Muuroloeno	1500	t
α -Tuyeno	934	t	δ -Cadineno	1527	t
α -Pinoeno	940	9.37 ± 2.52	α -Calacoreno	1548	0.16 ± 0.04
Canfeno	956	1.89 ± 0.64	β -Calacoreno	1572	t
Tuya-2,4(10)-dieno	960	0.41 ± 0.21	Sesquiterpenos oxigenados		22.42
Sabineno	974	0.17 ± 0.12	Palustrol	1576	0.30 ± 0.13
β -Pinoeno	982	t	Espatulenol	1585	0.79 ± 0.35
α -Terpineno	1022	t	Viridiflorol	1603	14.82 ± 1.82
p-Cimeno	1031	1.24 ± 0.08	Ledol	1613	5.56 ± 0.70
Limoneno	1031	0.38 ± 0.03	1- <i>epi</i> -Cubeno	1635	0.15 ± 0.05
γ -Terpineno	1067	0.30 ± 0.13	Muurolo-4,10(14)-dien-1- β -ol	1635	0.13 ± 0.04
p-Cimeno	1093	t	Ambroxido	1768	t
Monoterpenos oxigenados		49.31	Óxido de esclareol	1894	0.58 ± 0.12
1,8-Cineol	1040	0.10 ± 0.07	Esclareolida	2093	0.09 ± 0.02
Óxido de <i>cis</i> -Linalol	1077	0.19 ± 0.11	Aromáticos		t
Linalol	1104	t	Eugenol	1361	t
Óxido de <i>cis</i> -rose	1117	0.09 ± 0.03	Cinamato de cinamilo	2465	t
<i>cis</i> -p-Ment-2-en-1-ol	1132	0.11 ± 0.08	Otros		5.16
α -Canfolenal	1135	2.48 ± 0.18	<i>cis</i> -3-Hexenol	861	t
<i>trans</i> -Pinocarveol	1150	13.18 ± 3.66	1,2,4,4-Tetrametil-ciclohexano	866	t
Alcanfor	1156	1.49 ± 0.45	Benzaldehído	966	t
2 (10)-Pinoen-3-ona	1172	3.22 ± 1.10	2,6,1-Trimetil-ciclohexanona	1044	3.67 ± 1.14
Borneol	1179	t	3-Metil-2-ciclohexen-1-ona	1067	0.20 ± 0.09
p-Menta-1,5-dien-8-ol	1182	6.47 ± 0.98	Acetofenona	1068	0.38 ± 0.12
<i>cis</i> -Pinocanfona	1185	3.85 ± 0.19	3,4,4-Trimetil-2-ciclohexen-1ona	1087	t
Terpinen-4-ol	1188	4.42 ± 0.97	Benzoato de isoamilo	1441	t
p-Metil-acetofenona	1192	t	Benzoato de	1580	t
p-Cimeno-8-ol	1196	1.37 ± 0.19	3-Hexenilo	1593	t
α -Terpineol	1203	1.85 ± 0.18	Hexil	1778	t
Mirtenal	1205	2.02 ± 0.15	bencenopropanoato	1909	t
Verbenona	1219	1.17 ± 0.34	Benzoato de bencilo	2174	0.04 ± 0.02
<i>cis</i> -Ocimenona	1240	0.60 ± 0.07	Nonadecano	2319	t
<i>trans</i> -Ocimenona	1249	t	3-fenil-2-propenil bencenopropanoato	2500	0.19 ± 0.12
Carvona	1255	0.23 ± 0.09	Tricosano	2700	0.39 ± 0.11
Piperitona	1262	0.27 ± 0.24	Nonacosano	2900	0.29 ± 0.11
Acetato de bornilo	1291	5.61 ± 0.77	TOTAL IDENTIFICADO		93.23
Carvacrol	1316	0.10 ± 0.07			
Acetato de mirtenilo	1331	0.41 ± 0.19			
Acetato de <i>trans</i> -carvilo	1342	0.08 ± 0.05			
Sesquiterpenos hidrocarbonados		2.37			
Ciclosativeno	1372	0.25 ± 0.23			
α -Copaeno	1379	0.62 ± 0.19			
α -Gurgujeno	1411	t			
Aromadendreno	1464	0.99 ± 0.39			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.05%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ n-alcanos en la columna HP-1.

No existen apenas estudios sobre la composición del aceite esencial de *A. gallica*. En un trabajo sobre distintas especies de *Artemisia* de España se determinó la composición del aceite esencial de *A. gallica* de Cullera (Valencia), siendo los componentes mayoritarios alcanfor y α -tuyona (Villar *et al.*, 1983).

Tabla 7. Composición del aceite esencial de *Artemisia gallica* Willd. (Torreblanca, Castellón).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		3.65	Sesquiterpenos hidrocarbonados		4.51
α -Pinoeno	939	0.14 \pm 0.03	Germacreno D	1484	1.30 \pm 0.35
Canfeno	956	0.69 \pm 0.21	β -Selineno	1492	2.99 \pm 0.21
Tuya-2,4(10)-dieno	960	0.29 \pm 0.22	Biciclogermacreno	1500	0.22 \pm 0.07
Sabineno	977	0.30 \pm 0.13	Sesquiterpenos oxigenados		0.89
β -Pinoeno	979	t	Espatuleno	1581	0.14 \pm 0.09
α -Terpineno	1017	0.92 \pm 0.30	Junenol	1628	0.15 \pm 0.01
<i>p</i> -Cimeno	1026	1.18 \pm 0.22	<i>tau</i> -Cadinol	1643	0.31 \pm 0.01
Limoneno	1030	0.13 \pm 0.12	α -Cadinol	1658	t
Monoterpenos oxigenados		79.38	Germacra 4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1693	0.29 \pm 0.06
1,8-Cineol	1033	0.15 \pm 0.07	β -Costol	1775	t
γ -Terpineno	1060	0.04 \pm 0.02	Aromáticos		1.05
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1072	t	Metil eugenol	1404	1.05 \pm 0.49
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1099	t	Diterpenos hidrocarbonados		0.03
Filifolona	1109	18.11 \pm 4.69	Kaureno	2048	0.03 \pm 0.02
Crisantenona	1124	40.03 \pm 2.86	Otros		1.27
<i>trans</i> -Pinoearveol	1141	t	Mesitileno	995	0.27 \pm 0.07
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1143	t	Metil- <i>p</i> -xileno	1028	0.12 \pm 0.06
<i>trans</i> -Verbenol	1153	2.13 \pm 0.02	Isobutil tiglatol	1095	0.26 \pm 0.04
Alcanfor	1156	14.23 \pm 1.36	2,4-Decadienal	1322	0.18 \pm 0.09
Pinocarvona	1166	t	Docosano	2192	0.01 \pm 0.01
<i>cis</i> -Crisantenol	1169	t	Tricosano	2300	0.03 \pm 0.03
Borneol	1179	0.29 \pm 0.01	Tetracosano	2400	0.09 \pm 0.04
<i>p</i> -Menta-1,5-dien-8-ol	1182	0.24 \pm 0.04	Pentacosano	2500	0.08 \pm 0.03
Terpinen-4-ol	1188	2.15 \pm 1.09	Hexacosano	2600	0.06 \pm 0.02
<i>cis</i> -Piperitol	1197	0.51 \pm 0.04	Heptacosano	2700	0.07 \pm 0.03
Verbenone	1215	0.30 \pm 0.04	Nonacosano	2900	0.10 \pm 0.04
<i>trans</i> -Piperitol	1218	0.30 \pm 0.04	TOTAL IDENTIFICADO		90.81
Ascaridol	1247	0.85 \pm 0.44			
<i>trans</i> -Ocimenona	1249	t			
Piperitona	1262	t			
Epóxido de <i>cis</i> -piperitone	1266	t			
Epóxido de <i>trans</i> -piperitone	1269	0.05 \pm 0.01			
Timol	1293	t			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.01%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

4.1.6. *Artemisia annua* L.

Se identificaron 45 compuestos en el aceite esencial de *A. annua*, representando el 95.32% de su composición (Tabla 8). La fracción más importante, con gran diferencia con respecto a las demás fracciones encontradas, fue la constituida por los monoterpenos oxigenados (89.63%), con 19 compuestos determinados. A este grupo pertenecían los componentes mayoritarios, β -tuyona (59.80%), *cis*-epoxi-ocimeno (20.78%) y α -tuyona (3.25%). La segunda fracción más abundante fue la constituida por los sesquiterpenos hidrocarbonados (2.88%), con 5 compuestos identificados. En este aceite esencial no se hallaron sesquiterpenos oxigenados. La tercera fracción más abundante del aceite fue la constituida por los monoterpenos hidrocarbonados (2.11%), con 13 compuestos identificados.

Ha sido estudiado el aceite esencial de *A. annua* de diversos lugares, siendo muy distintas las composiciones encontradas, variando los componentes mayoritarios según su origen. El aceite esencial de plantas de *A. annua* de procedencia china y vietnamita cultivadas en Holanda, presentó diferente composición (Woerdenbag *et al.*, 1994), sugiriendo que existen diferentes quimiotipos de *A. annua*. En el de origen chino, se identificó como componente mayoritario la artemisia cetona (63.9%), siendo otros compuestos abundantes artemisia alcohol (7.5%), mirceno (5.1%), α -guaiene (4.7%) y alcanfor (3.3%), mientras que las de origen vietnamita presentaron grandes cantidades de alcanfor (21.8%) y germacreno-D (18.3%), además de β -cariofileno (5.6%), *trans*- β -farneseno (3.8%) y 1,8-cineol (3.1%).

En otro estudio llevado a cabo en Finlandia con plantas de diferente origen, también se observó gran variabilidad en los aceites esenciales, siendo alcanfor, artemisia cetona, germacreno-D y β -cariofileno los componentes mayoritarios. Uno de los aceites estudiados presentó excepcionalmente grandes cantidades de α -pineno. La variabilidad observada en los aceites correspondió a los diferentes lugares de origen, por lo que la composición está regulada por la genética (Holm *et al.*, 1997).

En India, se estudió la influencia de diferentes tratamientos nutricionales en la composición del aceite esencial de *A. annua* (Malik *et al.*, 2009), observándose cambios tanto cuantitativos como cualitativos en la composición tras la aplicación de diferentes tratamientos químicos y biológicos. El aceite de plantas control era rico en monoterpenos, con *cis*-limonene-1,2-epóxido (22.1%), artemisia cetona (11.5%), *iso*-pinocanfona (11.4%), alcohol tuyílico (9.9%) y alcanfor (8.4%) como componentes mayoritarios. El aceite esencial de plantas tratadas con *Azospirillum* tenía como componentes mayoritarios neral (31.1%), β -cariofileno (25.1%), artemisia cetona (10.0%), alcohol tuyílico (9.4%), *trans*-bergamotene (8.5%) y espatulenol (4.8%). El aceite esencial de plantas tratadas con N, P, K, y S presentó como componentes mayoritarios alcohol tuyílico (33.3%), β -cariofileno (15.5%), *cis*-

undec-5-eno (14.4%), artemisia cetona (6.0%), *trans*-nerolidol (5.8%) y undec-4-eno (4.6%).

Tabla 8. Composición del aceite esencial de *Artemisia annua* L. (Sparacia, Sicilia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		2.11	Sesquiterpenos hidrocarbonados		2.88
<i>cis</i> -Salveno	848	t	β -Cariofileno	1419	0.65
α -Pino	939	0.48	γ -Elemeno	1492	0.28
α -Fencheno	953	t	Isovalerato de geranilo	1576	1.11
Canfeno	954	0.15	Óxido de cariofileno	1586	0.84
Sabineno	977	0.80	Camazuleno	1727	t
β -Pino	979	t	Aromáticos		t
Mirceno	991	0.18	Eugenol	1361	t
α -Terpineno	1017	t	Diterpenos oxigenados		t
<i>p</i> -Cimeno	1026	0.20	Fitol	1945	t
Limoneno	1030	0.14	Otros		0.70
<i>cis</i> -Ocimeno	1043	0.16	1-Octen-3-ol	979	0.29
<i>trans</i> -Ocimeno	1053	t	Butanoato de <i>cis</i> -3-hexenilo	1187	0.29
γ -Terpineno	1060	t	Acrilato de dodecilo	1698	t
Monoterpenos oxigenados		89.63	Heneicosano	2100	t
1,8-Cineol	1033	2.34	Tricosano	2300	0.04
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1072	t	Pentacosano	2500	0.08
Linalol	1100	t	TOTAL IDENTIFICADO		95.32
α -Tuyona	1112	3.25			
β -Tuyona	1130	59.80			
<i>cis</i> -epoxi-Ocimeno	1139	20.78			
Tuyol	1150	1.03			
<i>trans</i> -epoxi-Ocimeno	1157	1.24			
Borneol	1169	t			
Lavandulol	1172	t			
Epóxido de rosafuran	1179	0.11			
Terpinen-4-ol	1180	0.11			
α -Terpineol	1192	0.26			
Fragranol	1212	t			
Acetato de linalilo	1257	0.71			
Acetato de 3-tuyanilo	1266	t			
Acetato de bornilo	1291	t			
Acetato de lavandulilo	1292	t			
Acetato de nerilo	1366	t			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.04%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

4.1.7. *Lavandula angustifolia* Mill.

La mayoría de compuestos presentes en el aceite esencial de *L. angustifolia* fueron monoterpenos oxigenados (Tabla 9), constituyendo la fracción más importante tanto cualitativa (26 compuestos determinados, de un total de 56 compuestos identificados) como cuantitativamente (89.80%). A esta fracción pertenecieron los componentes mayoritarios: linalol (33.53%), acetato de linalilo (22.33%), alcanfor (10.96%) y 1,8-cineol (9.16%). El resto de terpenos identificados fueron 9 monoterpenos hidrocarbonados (3.24%), 4 sesquiterpenos hidrocarbonados (1.76%) y 4 sesquiterpenos oxigenados (1.27%).

Tabla 9. Composición del aceite esencial de *Lavandula angustifolia* Mill. (Spacia, Sicilia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		3.24	Acetato de nerilo	1366	0.33 ± 0.10
<i>α</i> -Pinenol	939	0.46 ± 0.08	Acetato de geranilo	1386	0.72 ± 0.23
Canfeno	954	0.31 ± 0.01	Isovalerato de linalilo	1507	0.27 ± 0.05
Sabineno	977	0.14 ± 0.01	Butanoato de geranilo	1566	t
<i>β</i> -pineno	979	0.48 ± 0.01	Sesquiterpenos hidrocarbonados		1.76
Mirceno	991	0.34 ± 0.10	<i>β</i> -Cariofileno	1419	1.31 ± 0.14
<i>p</i> -Cimeno	1026	t	<i>α</i> - <i>trans</i> -Bergamoteno	1436	0.06 ± 0.05
Limoneno	1030	0.53 ± 0.04	<i>trans</i> - <i>β</i> -Farneseno	1458	0.34 ± 0.05
<i>cis</i> -Ocimeno	1043	0.71 ± 0.29	<i>γ</i> -Muurooleno	1479	0.05 ± 0.04
<i>trans</i> -Ocimeno	1053	0.27 ± 0.27	Sesquiterpenos oxigenados		1.27
Monoterpenos oxigenados		89.80	Óxido de Cariofileno	1586	1.19 ± 0.13
1,8-Cineol	1033	9.16 ± 0.43	Guaiol	1601	t
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1072	t	<i>γ</i> -Eudesmol	1635	t
Óxido de <i>cis</i> -linalol	1078	0.82 ± 0.03	<i>tau</i> -Cadinol	1643	0.08 ± 0.07
Óxido de <i>trans</i> -linalol	1093	0.54 ± 0.03	Otros		2.40
Linalol	1100	33.53 ± 3.00	1-Metoxihexano	726	0.03 ± 0.02
<i>β</i> -Tuyona	1130	0.11 ± 0.11	1-Octen-3-ol	979	0.05 ± 0.02
Alcanfor	1156	10.96 ± 1.07	3-Octanona	984	0.03 ± 0.02
Mentona	1164	0.05 ± 0.05	Acetato de hexilo	1019	0.15 ± 0.03
Borneol	1169	0.80 ± 0.01	Propanoato de hexilo	1116	0.16 ± 0.10
Lavandulol	1172	0.40 ± 0.40	Fenil etil alcohol	1126	0.25 ± 0.13
Mentol	1181	1.77 ± 0.13	Propanoato de 2-metil-hexilo	1159	0.08 ± 0.08
Terpinen-4-ol	1188	0.78 ± 0.11	Acetato de isononilo	1187	0.47 ± 0.06
<i>α</i> -Terpineol	1192	2.02 ± 0.84	Butanoato de hexilo	1206	t
<i>γ</i> -Terpineol	1207	0.29 ± 0.29	Butanoato de 2-metil hexilo	1242	0.03 ± 0.02
Citronelol	1236	2.45 ± 2.33	Isovalerato de hexilo	1248	0.04 ± 0.03
Neral	1247	t	Tiglato de hexilo	1336	0.34 ± 0.05
Acetato de linalilo	1257	22.33 ± 1.42	Acetato de 1,2,3-propanetriol	1359	0.77 ± 0.68
Geranial	1273	t	TOTAL IDENTIFICADO		98.47
Formato de citronelilo	1278	0.07 ± 0.07			
Formato de Nerilo	1280	0.22 ± 0.22			
Acetato de lavandulilo	1292	2.04 ± 0.24			
Formato de geranilo	1304	0.14 ± 0.14			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.03%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Existe mucha bibliografía sobre la composición del aceite esencial de *L. angustifolia*. El aceite obtenido de sus flores presenta como componentes mayoritarios acetato de linalilo, linalol, lavandulol, 1,8-cineol, acetato de lavandulilo y alcanfor (Lis-Balchin y Hart, 1999). En el aceite esencial de 2 poblaciones de *L. angustifolia* cultivadas en Grecia (Hassiotis *et al.*, 2010) se determinaron como compuestos mayoritarios acetato de linalilo (30.62%), linalol (29.56%), 1,8-cineol (5.18%) y alcanfor (4.03%) en la primera población, y la segunda, situada a mayor altura y con mayor precipitación que la anterior, presentó los mismos componentes mayoritarios, en diferentes proporciones: acetato de linalilo (26.92%), linalol (16.78%), 1,8-cineol (15.55%) y alcanfor (7.41%). Los componentes mayoritarios determinados en el aceite esencial de *L. angustifolia* cultivada en India (Verma *et al.*, 2010) fueron acetato de linalilo (47.56%), linalol (28.06%), acetato de lavandulilo (4.34%) y α -terpineol (3.75%). Los resultados obtenidos coinciden con la bibliografía existente sobre la composición de este aceite esencial.

4.1.8. *Rosmarinus officinalis* L.

Se identificaron un total de 50 compuestos en el aceite esencial de *R. officinalis*, representando el 99.92% de su composición (Tabla 10). La mayor parte de ellos fueron sustancias monoterpénicas, tanto hidrocarbonadas (19.71%) como oxigenadas (71.41%), perteneciendo a esta última fracción los componentes mayoritarios: 1,8-cineol (33.65%), alcanfor (18.04%) y borneol (7.72%). Respecto a los monoterpenos hidrocarbonados, destacan los porcentajes alcanzados por α -pineno (5.64%), β -pineno (3.86%), canfeno (3.02%) y limoneno (2.20%). Asimismo, se encontraron importantes cantidades de β -cariofileno (6.64%), siendo el componente mayoritario de la fracción sesquiterpénica hidrocarbonada.

El aceite esencial de *R. officinalis* se clasifica en 3 quimiotipos: cineolífero (alto contenido en 1,8-cineol), canforífero (alcanfor>20%) y verbenonífero (verbenona>15%). Algunos otros quimiotipos han sido reconocidos por la abundancia relativa de otros compuestos como α -pineno (Italia y Marruecos), mirceno (Portugal, Argentina y Brasil), cantidades similares de 1,8-cineol y alcanfor (India) o de 1,8-cineol y α -pineno (Líbano). La mayoría de *R. officinalis* espontáneo de Sicilia pertenece al grupo cineolífero (Napoli *et al.*, 2010). El aceite esencial determinado también se incluye dentro de este grupo.

4.1.9. *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link.

El aceite esencial de *T. capitatus* en floración mostró gran actividad frente a las arvenses ensayadas. Al estar disponible la planta en floración solamente durante un periodo limitado de tiempo, se verificó la posibilidad de utilizar el aceite obtenido de plantas en estado vegetativo, determinando la composición de aceite esencial de *T. capitatus* en floración (Tabla 11) y en estado vegetativo (Tabla 12).

Tabla 10. Composición del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (Sparacia, Sicilia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		19.71	Sesquiterpenos hidrocarbonados		7.42
Triciclono	928	0.08	β -Cariofileno	1423	6.64
α -Tuyeno	931	0.05	α -Humuleno	1459	0.65
α -Pino	939	5.64	<i>trans</i> - β -Farneseno	1464	t
Canfeno	956	3.02	β -Bisaboleno	1511	0.13
Sabineno	978	0.12	β -Sesquifelandreno	1527	t
β -Pino	982	3.86	Sesquiterpenos oxigenados		0.86
Mirceno	993	1.10	Óxido de cariofileno	1588	0.86
α -Felandreno	1010	0.10	α -Bisabolol	1690	t
α -Terpineno	1022	0.39	Aromáticos		t
<i>p</i> -Cimeno	1032	0.79	Eugenol	1365	t
Limoneno	1036	2.20	Metil eugenol	1415	t
<i>cis</i> - β -Ocimeno	1043	0.71	Otros		0.52
<i>trans</i> - β -Ocimeno	1053	0.27	1-Octen-3-ol	989	0.08
γ -Terpineno	1065	0.95	Metil jasmonato	1646	0.11
Terpinoleno	1090	0.43	Acrilato de dodecilo	1665	0.27
Monoterpenos oxigenados		71.41	Talato de dibutilo	1983	0.06
1,8-Cineol	1039	33.65	TOTAL IDENTIFICADO		99.92
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1073	t			
Óxido de <i>cis</i> -linalol	1078	0.18			
Linalol	1106	3.42			
α -Fenchol	1121	t			
β -Tuyona	1125	0.73			
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol	1130	t			
<i>cis</i> -epoxi-Ocimeno	1139	0.14			
Alcanfor	1156	18.04			
Hidrato de canfeno	1158	t			
δ -Terpineol	1179	t			
Borneol	1182	7.72			
Terpinen-4-ol	1187	1.31			
<i>p</i> -Cimen-8-ol	1196	0.07			
α -Terpineol	1202	4.30			
Mirtenol	1208	t			
γ -Terpineol	1209	t			
Acetato de linalilo	1257	1.12			
Acetato de bornilo	1290	0.73			
Acetato de lavandulilo	1296	t			
Timol	1299	t			
Carvacrol	1305	t			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.03%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Fueron identificados 30 compuestos en el aceite esencial de *T. capitatus* en plena floración, alcanzando el 97.60% de su composición (Tabla 11), mientras que 33 compuestos se determinaron en el aceite esencial de *T. capitatus* en estado vegetativo, representando el 97.88% (Tabla 12). Ambos aceites esenciales mostraron una composición similar, siendo la fracción más abundante la de los monoterpenos oxigenados (78.94% en floración y 68.79% en estado vegetativo). La siguiente fracción en importancia, y a la que pertenecieron el mayor número de compuestos identificados, fue la de los monoterpenos hidrocarbonados (10.42% y 18.35% respectivamente). Ambos aceites presentaron los mismos componentes mayoritarios: carvacrol (77.02 y 65.55%, respectivamente), *p*-cimeno (6.78 y 12.07%) y β -cariofileno (4.42 y 6.99%). Los sesquiterpenos hidrocarbonados constituyeron la tercera fracción más importante en ambos aceites (4.74 y 8.02%).

Tabla 11. Composición del aceite esencial de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link (Enna, Sicilia) en floración.

Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		10.42
α -Pinenol	939	0.48
Canfeno	954	0.19
β -Pinenol	979	0.08
Mirceno	991	1.06
α -Felandreno	1006	0.05
δ -3-Careno	1010	t
α -Terpineno	1017	0.64
<i>p</i> -Cimeno	1026	6.78
Limoneno	1030	0.17
γ -Terpineno	1060	0.97
Terpinoleno	1090	t
Monoterpenos oxigenados		78.94
1,8-Cineol	1033	t
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1079	0.38
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1095	t
Linalol	1100	0.40
Borneol	1179	t
Terpinen-4-ol	1188	0.82
Carvacrol	1302	77.02
Acetato de carvacrilo	1374	0.32
Sesquiterpenos hidrocarbonados		4.74
β -Cariofileno	1419	4.42
β -Bisaboleno	1507	0.24
δ -Cadineno	1526	0.08

Compuestos	IK	Área (%)
Sesquiterpenos oxigenados		1.32
Espatuleno	1581	t
Óxido de cariofileno	1586	1.32
Diterpenos hidrocarbonados		0.11
Abietatriene	2072	0.11
Aromáticos		1.77
Eugenol	1361	1.77
Acetato de chavibetol	1520	t
Otros		0.30
1-Octen-3-ol	979	0.30
3-Octanol	997	t
2-Nonanona	1092	t
TOTAL IDENTIFICADO		97.60

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.02%. IK, índice de Kovats relativo a C_8 - C_{32} *n*-alcanos en la columna HP-1.

Tabla 12. Composición del aceite esencial de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link (Riesi, Sicilia) en estado vegetativo.

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		18.35	Sesquiterpenos hidrocarbonados		8.02
α -Tuyeno	931	0.86 \pm 0.05	β -Cariofileno	1419	6.99 \pm 0.23
α -Pinoeno	939	0.65 \pm 0.03	Aromadendreno	1442	0.10 \pm 0.05
Canfeno	954	0.33 \pm 0.07	α -Humuleno	1457	t
β -Pinoeno	979	0.10 \pm 0.03	<i>allo</i> -Aromadendrene	1459	0.04 \pm 0.04
Mirceno	991	1.39 \pm 0.12	Biclogermacreno	1500	0.21 \pm 0.02
α -Felandreno	1006	0.01 \pm 0.01	β -Bisaboleno	1507	0.68 \pm 0.10
δ -3-Careno	1010	t	γ -Cadineno	1516	t
α -Terpineno	1017	0.55 \pm 0.07	δ -Cadineno	1526	t
<i>p</i> -Cimeno	1026	12.07 \pm 1.09	Sesquiterpenos oxigenados		2.34
Limoneno	1030	0.38 \pm 0.11	Espatulenol	1581	0.21 \pm 0.12
γ -Terpineno	1060	2.01 \pm 0.34	Óxido de cariofileno	1586	2.13 \pm 0.22
Terpinoleno	1090	t	Otros		0.38
Monoterpenos oxigenados		68.79	1-Octen-3-ol	979	0.32 \pm 0.07
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1079	0.33 \pm 0.05	3-Octanol	997	t
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1095	t	Heneicosano	2100	0.06 \pm 0.01
Linalol	1100	1.26 \pm 0.05	TOTAL IDENTIFICADO		97.88
Borneol	1179	t			
Terpinen-4-ol	1188	1.11 \pm 0.32			
Criptona	1202	0.04 \pm 0.02			
Carvacrol	1302	65.55 \pm 1.44			
Acetato de carvacrilo	1374	0.50 \pm 0.19			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.05%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂*n*-alcanos en la columna HP-1.

En un estudio de los aceites esenciales de *T. capitatus* de la costa Jónica de Sicilia se determinaron como componentes mayoritarios carvacrol (86.3%), β -cariofileno y α -elemol (1.4%) (Ruberto y Biondi, 1992).

Los aceites esenciales de diversas poblaciones de *T. capitatus* del sur de Italia fueron analizados, siendo los componentes mayoritarios timol y carvacrol, seguidos por γ -terpineno, *p*-cimeno y borneol. Fueron identificando 3 quimiotipos, en función del contenido en timol (a), carvacrol (b) o ambos (c). El quimiotipo (a), el más extendido en la zona muestreada, resultó ser anómalo, al compararlo con trabajos previos sobre otras poblaciones de *T. capitatus* de Sicilia, Cerdeña y Albania, que contenían como componente mayoritario carvacrol, presentando pequeñas cantidades de timol, inferiores al 1%, correspondiendo al quimiotipo carvacrol (b) (Ruberto y Biondi, 1992; Falchi Delitala *et al.*, 1983; De Leo *et al.*, 2001). En la zona muestreada este quimiotipo fue el menos representado, sólo encontrándose en áreas de la costa Jónica y Adriática, lo que hace pensar en una posible conexión con las condiciones climáticas donde crece la planta, que habría que estudiar más a

fondo. El quimiotipo timol/carvacrol se encontró heterogéneamente en toda el área de estudio, por lo que debe ser un cruce de los quimiotipos (a) y (b). Todos los aceites estudiados mostraron contenidos en timol y carvacrol superiores al 50% (Miceli *et al.*, 2006).

4.1.10. *Tagetes lemmonii* A. Gray

Se identificaron 28 compuestos en el aceite esencial de *T. lemmonii* representando el 97.72% de su composición (Tabla 13). La mayoría de compuestos determinados fueron monoterpenos oxigenados (13 compuestos, alcanzando un 92.75%). Los monoterpenos hidrocarbonados constituyeron la segunda fracción más abundante del aceite, con 5 compuestos identificados (4.24%). Destacaron como componentes mayoritarios dihidro-tagetona (61.00%), *trans*-ocimenona (15.00%) y *cis*-tagetona (14.38%).

Tabla 13. Composición del aceite esencial de *Tagetes lemmonii* A. Gray (Bagheria, Sicilia).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		4.24	Sesquiterpenos hidrocarbonados		0.73
Mirceno	991	0.35	β -Cariofileno	1419	0.39
α -Felandreno	1006	0.35	Germacreno D	1484	0.34
<i>p</i> -Cimeno	1026	t	Biciclogermacreno	1500	t
<i>cis</i> -Ocimeno	1043	3.54	Sesquiterpenos oxigenados		t
<i>allo</i> -Ocimeno	1136	t	Espatulenol	1581	t
Monoterpenos oxigenados		92.75	Óxido de cariofileno	1586	t
dihidro-Tagetona	1063	61.00	Otros		t
6,7-epoxi-Mircene	1096	0.28	2-metil-etil-Butanoato	844	t
Linalol	1100	t	2-Hexenal	847	t
<i>cis</i> -epoxi-Ocimeno	1139	t	3-Hexen-1-ol	850	t
<i>trans</i> -Tagetona	1153	0.22	1-Hexanol	863	t
<i>cis</i> -Tagetona	1162	14.38	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	1851	t
Terpinen-4-ol	1180	t	TOTAL IDENTIFICADO		97.72
Criptona	1185	0.21			
<i>cis</i> -Ocimenona	1240	1.31			
<i>trans</i> -Ocimenona	1249	15.00			
Felandral	1274	t			
Carvacrol	1302	t			
<i>p</i> -vinil-Guaiacol	1313	0.35			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.03%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Apenas se han llevado a cabo estudios sobre la composición del aceite esencial de *T. lemmonii*. Se determinó la composición de este aceite esencial obtenido de

plantas cultivadas en Estados Unidos (Tucker y Maciarello, 1996), siendo los componentes mayoritarios dihidro-tagetona ($42.52 \pm 11.27\%$), *trans*-tagetona ($16.10 \pm 18.21\%$) y *trans*-ocimenona ($14.18 \pm 3.31\%$).

4.1.11. *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér.

En el aceite esencial de *P. odoratissimum* fueron identificados 42 compuestos, representando el 95.92% de su composición (Tabla 14). La mayor parte de compuestos pertenecieron a la fracción de los monoterpenos oxigenados, que fue además la más abundante (24 compuestos determinados, 75.05%). A esta fracción pertenecieron los compuestos mayoritarios del aceite: citronelol (20.40%), α -terpineol (12.60%) y geraniol (12.30%).

Tabla 14. Composición del aceite esencial de *Pelargonium odoratissimum* (L.) L' Hér. (muestra comercial).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		2.05	Acetato de nerilo	1367	1.82
α -Pinoeno	939	1.30	Acetato de geraniol	1387	4.23
Canfeno	956	0.17	Butanoato de geraniol	1563	2.56
Sabineno	978	t	Sesquiterpenos hidrocarbonados		t
β -Pinoeno	982	0.58	β -cariofileno	1423	t
Monoterpenos oxigenados		75.05	Sesquiterpenos oxigenados		1.52
1,8-Cineol	1039	1.34	Hediciario	1542	t
Óxido de <i>cis</i> -linalol	1078	0.15	Guaiol	1603	0.46
Linalol	1106	4.19	10-epi- γ -Eudesmol	1629	0.28
β -Tuyona	1125	t	γ -Eudesmol	1642	t
3-Terpinen-1-ol	1140	t	β -Eudesmol	1661	t
<i>cis</i> - β -Terpineol	1145	0.59	α -Eudesmol	1664	t
Alcanfor	1156	0.87	Bulnesol	1674	0.78
Mentona	1159	1.70	Otros		17.30
<i>neo</i> -Tuyol	1164	0.79	Dipropilenglicol	1043	2.84
Mentol	1173	1.13	Fenil-etil-alcohol	1127	2.32
α -Terpineol	1202	12.60	Acetato de isononilo	1178	4.94
Mirtenol	1208	-	Diacetato de 1,2,3-propanotriol	1363	7.15
γ -Terpineol	1209	3.93	3-bencilene-2-Bornanona	1952	0.05
Citronelol	1237	20.40	Dibutil talato	1983	t
Neral	1241	t	TOTAL IDENTIFICADO		95.92
Geraniol	1250	12.30			
Geraniol	1266	1.20			
Formato de citronelilo	1278	3.34			
Formato de nerilo	1286	t			
Acetato de lavandulilo	1296	t			
Formato de geraniol	1305	1.91			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.03%. IK, índice de Kovats relativo a C_8 - C_{32} -*n*-alcanos en la columna HP-1.

Existen pocos trabajos sobre la composición química de *P. odoratissimum*. Se determinó la composición de este aceite esencial obtenido de plantas cultivadas en el Reino Unido (Lis-Balchin y Roth, 2000), siendo los componentes mayoritarios metil eugenol (31.2-79.8%), *iso*-mentona (4.6-16.9%) y L-fenchona (2.5-7.9%). En plantas cultivadas en Brasil, se detectaron como componentes del aceite esencial metil eugenol (96.8%), metil isoeugenol (1.7%), biciclogermacreno (0.9%) y germacreno B (0.3%). La composición de la muestra comercial de *P. odoratissimum* es muy diferente de la recogida en estos trabajos. Probablemente sea debido a que se haya obtenido el aceite esencial de plantas de origen diverso.

4.1.12. *Thymus vulgaris* L.

Se identificaron 28 compuestos en el aceite esencial de *T. vulgaris*, alcanzando el 99.55% de su composición (Tabla 15). La mayoría resultaron ser monoterpenos (25), constituyendo los monoterpenos oxigenados la fracción más abundante desde el punto de vista cuantitativo, con 12 compuestos identificados, que representaron el 56.06% del aceite. La segunda fracción más importante fueron los monoterpenos hidrocarbonados, con 13 compuestos adjudicados, que representaron el 40.77%. Los componentes mayoritarios fueron timol (42.17%), *p*-cimeno (25.37%), γ -terpineno (7.43%) y linalol (5.23%).

Tabla 15. Composición del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. (muestra comercial).

Compuestos	IK	Área (%)	Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		40.77	Borneol	1169	0.30
Triciclono	928	0.09	Terpinen-4-ol	1180	0.48
α -Pino	939	1.17	α -Terpineol	1192	0.74
Canfeno	954	1.81	γ -Terpineol	1207	0.06
<i>trans-p</i> -Mentano	980	t	Nerol	1239	t
β -Pino	982	0.34	Acetato de linalilo	1257	0.08
<i>cis-p</i> -Mentano	991	t	Timol	1293	42.17
Mirceno	993	1.45	Carvacrol	1302	2.69
α -Felandreno	1006	t	Acetato de nerilo	1366	0.33
α -Terpineno	1017	2.20	Sesquiterpenos hidrocarbonados		2.48
<i>p</i> -Cimeno	1026	25.37	β -Cariofileno	1419	2.29
Limoneno	1030	0.63	α -Humuleno	1457	0.19
γ -Terpineno	1060	7.43	Sesquiterpenos oxigenados		0.24
Terpinoleno	1090	0.28	Óxido de cariofileno	1586	0.24
Monoterpenos oxigenados		56.06	TOTAL IDENTIFICADO		99.55
1,8-Cineol	1033	3.98			
Linalol	1100	5.23			
Isoborneol	1152	t			

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0.02%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Han sido descritos diferentes quimiotipos de *T. vulgaris* (Thompson *et al.*, 2003; Kaloustian *et al.*, 2005) en función de sus principales componentes y su biosíntesis. Estos compuestos incluyen geraniol, linalol, α -terpineol, hidrato de sabineno, 1,8-cineol, carvacrol y timol (Chizzola *et al.*, 2008). El aceite esencial identificado es quimiotipo timol. Probablemente la secuencia biogénica (γ -terpineno \rightarrow *p*-cimeno \rightarrow timol) define este quimiotipo (Piccaglia y Marotti, 1991). La composición determinada es muy similar a la encontrada en aceite esencial de *T. vulgaris* de Río de Janeiro (Brasil), coincidiendo los componentes mayoritarios, a excepción del linalol, que no fue identificado en la muestra de Brasil, siendo superior el contenido en γ -terpineno (Porte y Godoy, 2008).

4.1.13. *Origanum vulgare* L.

El aceite esencial de *O. vulgare* se caracterizó por la ausencia de sustancias sesquiterpénicas (Tabla 16). Un total de 23 compuestos fueron identificados, alcanzando el 99.25% de su composición. Se trata de un aceite esencial constituido por sustancias monoterpénicas, tanto hidrocarbonadas (50.54%), como oxigenadas (48.65%). Los componentes mayoritarios fueron carvacrol (29.16%), *p*-cimeno (27.58%), limoneno (13.63%) y timol (12.06%).

Tabla 16. Composición del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (muestra comercial).

Compuestos	IK	Área (%)
Monoterpenos hidrocarbonados		50.54
α -Pino	939	4.44
Canfeno	954	0.27
α -Terpineno	1017	1.37
<i>p</i> -Cimeno	1026	27.58
Limoneno	1030	13.63
γ -Terpineno	1060	0.66
<i>p</i> -Menta-3,8-diene	1075	t
<i>p</i> -Menta-2,4-diene	1087	t
Terpinoleno	1090	2.59
Monoterpenos oxigenados		48.65
1,8-Cineol	1033	1.43
Linalol	1100	2.25
1-Terpineol	1135	t
<i>cis</i> - β -Terpineol	1143	t
Isoborneol	1152	t
Borneol	1169	0.21
Terpinen-4-ol	1180	0.34

Compuestos	IK	Área (%)
<i>p</i> -Cimen-8-ol	1196	t
α -Terpineol	1202	2.77
γ -Terpineol	1207	0.43
Timol	1293	12.06
Carvacrol	1302	29.16
Acetato de α -terpinilo	1362	t
Otros		0.06
Pentacosane	2499	0.04
TOTAL IDENTIFICADO		99.25

Compuestos por grupos fitoquímicos y en orden de elución en columna HP-1. t, trazas < 0,05%. IK, índice de Kovats relativo a C₈-C₃₂ *n*-alcanos en la columna HP-1.

Se han descrito diferentes quimiotipos del aceite esencial de *O. vulgaris*, como carvacrol (Fisher *et al.*, 1988; Franz y Novak, 1997; Rodrigues *et al.*, 2004), timol, cariofileno, sabineno, γ -terpineno y β -cubeneno (Schulz *et al.*, 2003; Baranska *et al.*, 2005). El aceite analizado corresponde a quimiotipo carvacrol. Se identificó el carvacrol como el principal componente de *O. vulgare* cultivado en Brasil (Rodrigues *et al.*, 2004). Se han hallado composiciones muy diversas en el aceite esencial de *O. vulgare*, al ser una especie con una amplia área de distribución. El aceite de *O. vulgare* cultivado en Francia se caracterizó por tener un alto contenido en sesquiterpenos (Figuéredo *et al.*, 2006).

4.2. Composición de los extractos acuosos.

Los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer*, y *A. gallica* se analizaron por HPLC-Masas utilizando como fase móvil metanol-agua o acetoneitrilo-agua. La complejidad de los extractos acuosos hizo que nos planteáramos posponer su análisis en profundidad para un estudio posterior mediante el empleo de patrones. No obstante, de la observación del espectro de ultravioleta y de los correspondientes espectros de masas por electrospray en modo positivo, podemos deducir que los extractos más activos en los ensayos de invernadero y campo, *E. camaldulensis* y *E. africanus*, contienen ácidos fenólicos, y flavonoides tanto al estado de genina como de heterósidos derivados principalmente del kaempferol. En cuanto a los ácidos fenólicos es interesante destacar la presencia de fenilpropanoides como el ácido clorogénico en *E. africanus*.

4.3. Actividad fitotóxica *in vitro* de los aceites esenciales.

4.3.1. *Lantana camara* L.

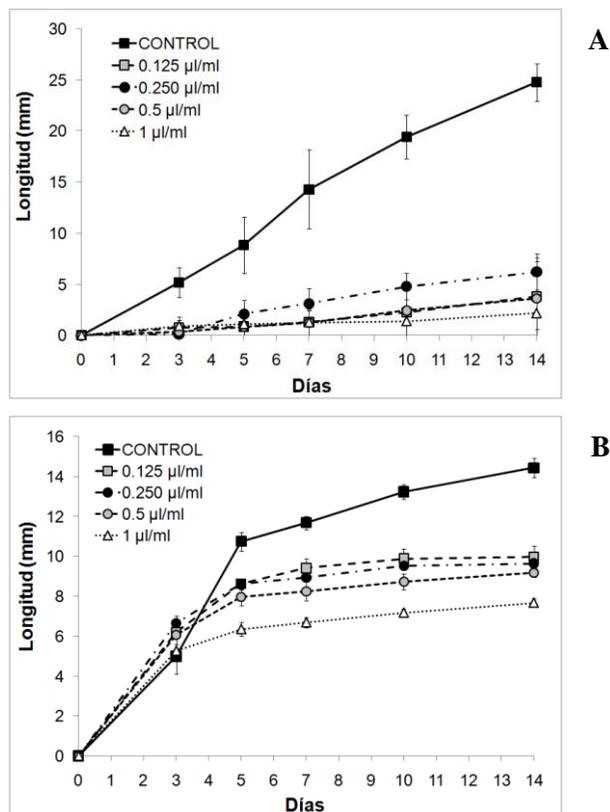
El potencial herbicida del aceite esencial de *L. camara* se ensayó *in vitro* frente a *Amaranthus hybridus*, *Portulaca oleracea*, *Chenopodium album*, *Conyza canadensis* y *Parietaria judaica*. Se evaluaron los efectos del aceite sobre la germinación (Tabla 17) y el crecimiento (Tabla 18 y Figura 1A, B y C) de dichas arvenses. El aceite esencial de *L. camara* no mostró efectos significativos sobre la germinación de *P. oleracea*, *C. album* y *C. canadensis*. En *C. album* las semillas tratadas con las diferentes concentraciones del aceite tuvieron porcentajes de germinación mayores que el control, sin llegar a ser estas diferencias en ningún caso significativas. En cambio, este aceite demostró un gran efecto inhibitorio sobre la germinación tanto de *A. hybridus* como de *P. judaica*, siendo activas todas las dosis ensayadas, que redujeron la germinación significativamente con respecto al control, pero sin diferencias entre ellas. En *A. hybridus* la aplicación del aceite de *L. camara* disminuyó la germinación desde un 86.2% hasta un 96.6%, y en *P. judaica* desde un 82.6% hasta inhibirla totalmente.

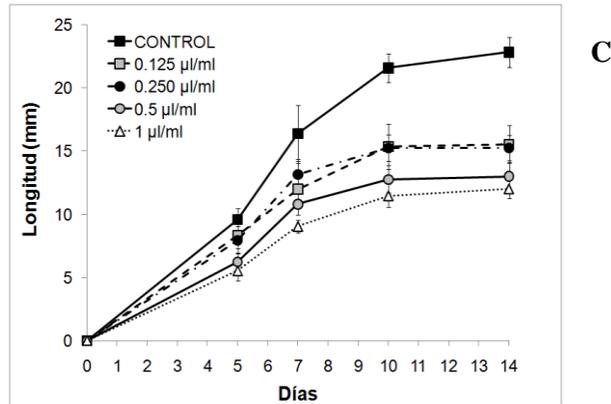
Tabla 17. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con aceite esencial de *L. camara*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium Álbum</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	87.0 \pm 6.4 a	100.0 \pm 0.0 a	35.0 \pm 5.2 a	78.0 \pm 9.4 a	23.0 \pm 4.9 a
0.125	6.0 \pm 2.9 b	95.0 \pm 2.7 a	52.0 \pm 4.6 a	70.0 \pm 5.7 a	0.0 \pm 0.0 b
0.250	12.0 \pm 6.0 b	92.0 \pm 3.0 a	50.0 \pm 7.7 a	55.0 \pm 7.4 a	2.0 \pm 2.0 b
0.5	5.0 \pm 2.7 b	94.0 \pm 1.9 a	56.0 \pm 5.6 a	60.0 \pm 16.8 a	3.0 \pm 2.0 b
1	3.0 \pm 2.0 b	97.0 \pm 1.2 a	47.0 \pm 5.8 a	67.0 \pm 12.8 a	4.0 \pm 1.9 b

El aceite esencial de *L. camara* tuvo un marcado efecto inhibitorio sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*. Todas las concentraciones probadas mostraron actividad con respecto al control (Figura 1A), inhibiendo el crecimiento desde un 74.9 hasta un 91.3% sin diferencias significativas entre ellas.

Figura 1. Efecto del aceite esencial de *L. camara* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus* (A), *P. oleracea* (B) y *C. album* (C).





A pesar de no haber mostrado efectos sobre su germinación, el aceite esencial de *L. camara* controló el crecimiento de *P. oleracea*, reduciéndolo desde un 30.9 hasta un 46.9%. Todas las dosis probadas mostraron efectos inhibitorios significativos con respecto al control, sin haber diferencias entre las 3 menores, pero sí fueron significativas las diferencias entre ellas y la dosis máxima aplicada (Figura 1B).

Al igual que sucedió con *P. oleracea*, el aceite esencial de *L. camara* no logró controlar la germinación de *C. album*, pero mostró efectos inhibitorios sobre su crecimiento. Todas las concentraciones aplicadas tuvieron un efecto significativo con respecto al control, reduciendo la longitud de las plántulas desde un 32 hasta un 47.3%, sin diferencias entre ellas (Figura 1C).

El aceite esencial de *L. camara* no tuvo efectos significativos sobre el crecimiento de *C. canadensis* (Tabla 18), en cambio, sobre el crecimiento de *P. judaica* mostró un fuerte efecto inhibitorio (al igual que sobre su germinación). Todas las concentraciones aplicadas mostraron efecto significativo con respecto al control (Tabla 18), sin diferencias entre ellas. La longitud de las plántulas se redujo desde un 89% hasta un 98.9%.

Tabla 18. Efecto del aceite esencial de *L. camara* sobre la longitud de plántulas de *C. canadensis* y *P. judaica*.

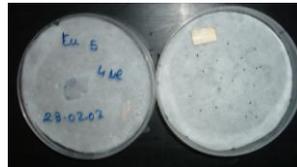
Concentración (µl/ml)	Longitud (mm ± e.s.)	
	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	1.55 ± 0.08 a	17.41 ± 1.37 a
0.125	1.56 ± 0.14 a	-
0.250	1.33 ± 0.09 a	0.20 ± 0.20 b
0.5	1.69 ± 0.20 a	1.43 ± 0.91 b
1	1.50 ± 0.13 a	1.91 ± 1.47 b

4.3.2. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

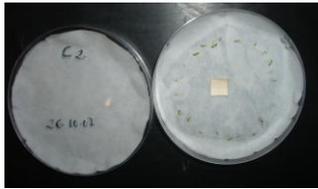
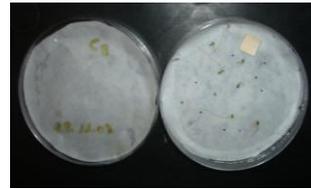
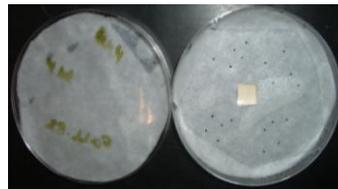
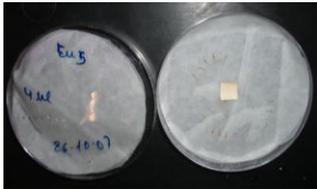
El aceite esencial de *E. camaldulensis* obtenido a partir de plantas de Valencia se ensayó en *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* para verificar su potencial herbicida, mientras que el aceite esencial de *E. camaldulensis* obtenido de plantas de Sparacia (Sicilia) se probó en *P. oleracea* y *C. canadensis*. El primero mostró un gran potencial herbicida, al inhibir totalmente la germinación de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *P. judaica* a todas las concentraciones aplicadas (Tabla 19), y lo mismo sucedió en *C. canadensis* a todas las concentraciones excepto la de 0.5 $\mu\text{l/ml}$, en que hubo una germinación muy baja, del 1%. En cambio, frente a *C. album*, las dos concentraciones más bajas tuvieron un efecto estimulante sobre la germinación, incrementándola un 60% (concentración 0.125 $\mu\text{l/ml}$) y un 62.9% (concentración de 0.25 $\mu\text{l/ml}$), mientras que la concentración de 0.5 $\mu\text{l/ml}$ no mostró diferencias significativas con el control, y la concentración mayor (1 $\mu\text{l/ml}$) inhibió la germinación un 57.1%.

Tabla 19. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con aceite esencial de *E. camaldulensis* (Valencia).

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	87.0 \pm 6.4 a	100.0 \pm 0.0 a	35.0 \pm 5.2 b	78.0 \pm 9.4 a	23.0 \pm 4.9 a
0.125	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b	56.0 \pm 2.9 a	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b
0.250	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b	57.0 \pm 4.6 a	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b
0.5	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b	39.0 \pm 8.7 b	1.0 \pm 1.0 b	0.0 \pm 0.0 b
1	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b	15.0 \pm 4.5 c	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b

Control *A. hybridus*Control *P. oleracea*Control *C. album*

Semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. album* tratadas con la máxima concentración (1 $\mu\text{l/ml}$) de aceite de *E. camaldulensis* (Valencia).

Control *C. canadensis*Control *P. judaica*Semillas de *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con la máxima concentración (1 µl/ml) de aceite de *E. camaldulensis* (Valencia).

El aceite esencial de *E. camaldulensis* obtenido de plantas de Sparacia (Sicilia) no mostró un potencial herbicida tan efectivo como el del aceite de *E. camaldulensis* de plantas de Valencia, pero también controló la germinación de las arvenses sobre las que se aplicó (Tabla 20). En *P. oleracea*, inhibió totalmente la germinación a la dosis mayor aplicada, mientras que las concentraciones de 0.25 y 0.5 µl/ml mostraron diferencias significativas con el control y entre ellas, inhibiendo la germinación un 27.3 y un 60.2% respectivamente. En *C. canadensis* hubo diferencias en la germinación entre todas las dosis de aceite aplicadas y el control. La germinación se redujo un 36.2% a la concentración de 0.125 µl/ml y un 79.8% a la de 0.25 µl/ml. Entre las dos concentraciones más altas de aceite aplicadas no hubo diferencias significativas, controlando totalmente la germinación la dosis de 0.5 µl/ml, y reduciéndola un 98.9% la de 1 µl/ml.

Tabla 20. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *E. camaldulensis* (Sparacia, Sicilia).

Concentración (µl/ml)	Germinación (%) ± e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.0 ± 2.0 a	94.0 ± 2.4 a
0.125	84.0 ± 3.3 ab	60.0 ± 6.3 b
0.250	64.0 ± 11.6 b	19.0 ± 5.8 c
0.5	35.0 ± 10.2 c	0.0 ± 0.0 d
1	0.0 ± 0.0 d	1.0 ± 1.0 d

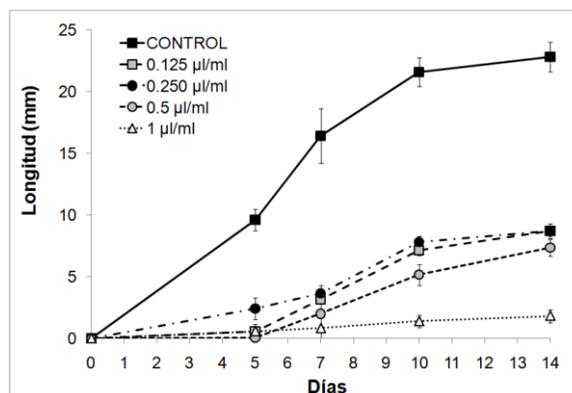
En cuanto a los efectos de ambos aceites sobre el crecimiento de las plántulas, dado que el aceite de *E. camaldulensis* (Valencia) inhibió completamente la germi-

nación de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *P. judaica*, en estas especies sólo hubo datos de longitud de las plántulas control (Tabla 21). En cuanto a *C. canadensis*, hubo diferencias significativas entre el crecimiento de las plántulas control y las tratadas con la concentración 0.5 $\mu\text{l/ml}$, que mostraron una reducción de la longitud del 91.6%. Este aceite esencial sólo mostró efectos inhibitorios en la germinación de *C. album* a la concentración más alta empleada (1 $\mu\text{l/ml}$) (Tabla 19), sin embargo, todas las concentraciones fueron efectivas inhibiendo el crecimiento de las plántulas, mostrando diferencias significativas la longitud de las plántulas control con la longitud de las plántulas tratadas con las diferentes concentraciones del aceite (Figura 2). Además hubo diferencias entre la longitud de las plántulas tratadas con la concentración mayor (1 $\mu\text{l/ml}$), que presentaban una reducción del crecimiento del 92%, y la longitud de las plántulas tratadas con las demás concentraciones aplicadas, que presentaban reducciones del crecimiento del 61.8 al 67.8%, sin haber diferencias entre ellas.

Tabla 21. Efecto del aceite esencial de *E. camaldulensis* (Valencia) sobre la longitud de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

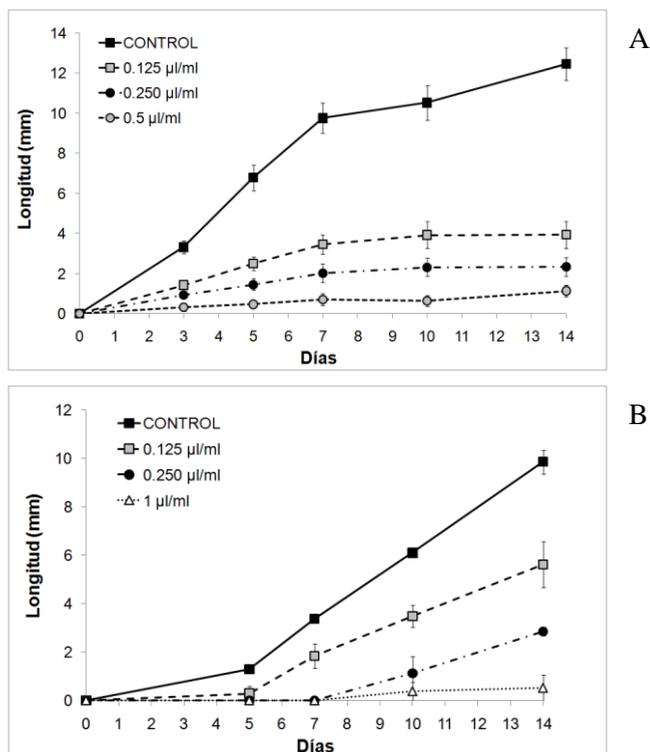
Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Longitud (mm \pm e.s.)			
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	24.77 \pm 1.82	14.43 \pm 0.49	1.55 \pm 0.08 a	17.41 \pm 1.37
0.125	-	-	-	-
0.250	-	-	-	-
0.5	-	-	0.13 \pm 0.13 b	-
1	-	-	-	-

Figura 2. Efecto del aceite esencial de *E. camaldulensis* (Valencia) sobre el crecimiento de plántulas de *C. album*.



El aceite esencial de *E. camaldulensis* (Sparacia, Sicilia) mostró efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las dos arvenses en las que se aplicó, *P. oleracea* (Figura 3A) y *C. canadensis* (Figura 3B), siendo significativas las diferencias observadas en la longitud de las plántulas control y la longitud de las plántulas tratadas con todas las concentraciones del aceite, en ambas especies. En *P. oleracea*, la longitud de las plántulas tratadas con las concentraciones menores del aceite, 0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$, se redujo un 68.4 y un 81.2% respectivamente, sin diferencias entre ellas. Las plántulas tratadas con la concentración 0.5 $\mu\text{l/ml}$ mostraron una inhibición del crecimiento del 90.9%, siendo significativa la diferencia con la concentración de 0.125 $\mu\text{l/ml}$. En *C. canadensis*, todas las concentraciones aplicadas redujeron el crecimiento de las plántulas, siendo significativas las diferencias entre ellas. La longitud de las plántulas se redujo un 42.9, 71 y 94.6% a las concentraciones de 0.125, 0.25 y 1 $\mu\text{l/ml}$, respectivamente.

Figura 3. Efecto del aceite esencial de *E. camaldulensis* (Sparacia, Palermo) sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).



4.3.3. *Eriocephalus africanus* L.

Para verificar su potencial herbicida, el aceite esencial de *E. africanus* fue ensayado *in vitro* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judai-*

ca, mostrando un gran poder inhibitorio de la germinación de *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica*, ya que todas las concentraciones del aceite esencial fueron efectivas en el control de la germinación de estas especies, sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 22). Frente a la germinación de *P. oleracea* este aceite esencial no fue tan activo, ya que sólo tuvieron efecto inhibitorio las dos concentraciones más altas de aceite empleadas (0.5 y 1 µl/ml), reduciendo la germinación un 23 y un 24% respectivamente. El aceite esencial de *E. africanus* mostró efectos estimulatorios sobre la germinación de *C. album*, incrementándose la germinación al aplicar todas las concentraciones del aceite, sin haber diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

Tabla 22. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con aceite esencial de *E. africanus*.

Concentración (µl/ml)	Germinación (%) ± e.s.				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	87.0 ± 6.4 a	100.0 ± 0.0 a	35.0 ± 5.2 b	78.0 ± 9.4 a	23.0 ± 4.9 a
0.125	0.0 ± 0.0 b	94.0 ± 3.7 a	68.0 ± 3.7 a	1.0 ± 1.0 b	0.0 ± 0.0 b
0.250	1.0 ± 1.0 b	96.0 ± 1.9 a	60.0 ± 5.7 a	1.0 ± 1.0 b	0.0 ± 0.0 b
0.5	1.0 ± 1.0 b	77.0 ± 7.7 b	63.0 ± 3.7 a	7.0 ± 3.7 b	0.0 ± 0.0 b
1	0.0 ± 0.0 b	76.0 ± 10.0 b	55.0 ± 5.7 a	3.0 ± 1.2 b	0.0 ± 0.0 b

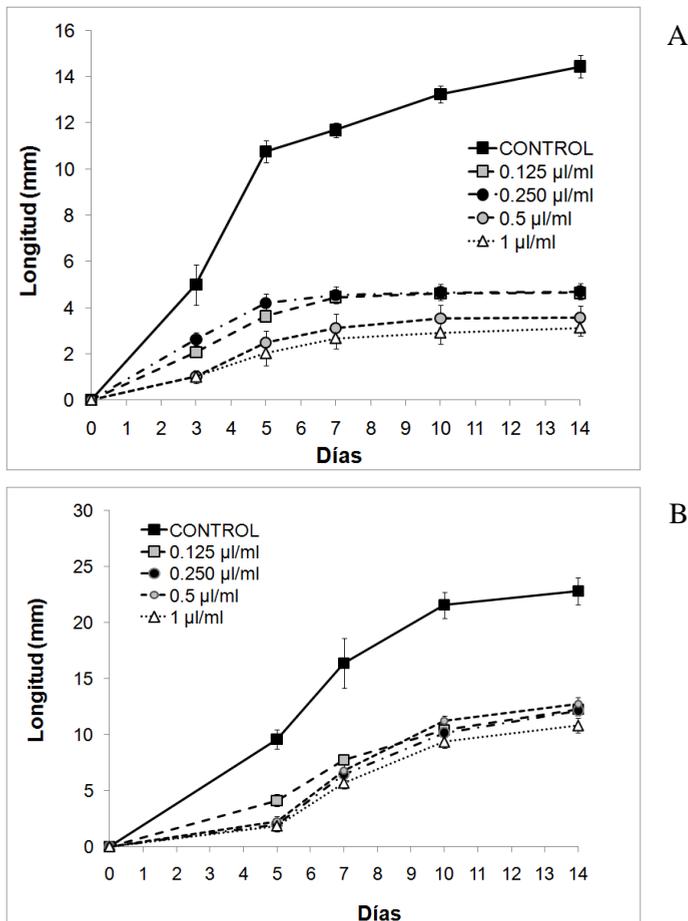
En cuanto a los efectos sobre el crecimiento de las plántulas, el aceite esencial de *E. africanus* redujo el crecimiento de todas las arvenses en las que se probó. En *A. hybridus*, prácticamente controló el crecimiento a todas las concentraciones ensayadas, sin diferencias entre ellas (Tabla 23). En *P. judaica*, al no germinar semillas tratadas con las diferentes concentraciones del aceite esencial sólo se evaluó la longitud de las plántulas control (Tabla 23). En *C. canadensis*, hubo diferencias significativas en la longitud de todas las plántulas tratadas con las distintas concentraciones del aceite esencial de *E. africanus* excepto la de 0.5 µl/ml (Tabla 23). La longitud de las plántulas se redujo desde un 53.5 a un 91.6%.

Tabla 23. Efecto del aceite esencial de *E. africanus* sobre la longitud de plántulas de *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración (µl/ml)	Longitud (mm ± e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	24.77 ± 1.82 a	1.55 ± 0.08 a	17.41 ± 1.37
0.125	-	0.13 ± 0.13 c	-
0.250	0.82 ± 0.82 b	0.26 ± 0.26 c	-
0.5	0.28 ± 0.28 b	0.94 ± 0.27 ab	-
1	-	0.72 ± 0.31 bc	-

En *P. oleracea*, todas las plántulas tratadas con las distintas concentraciones del aceite esencial de *E. africanus* mostraron una longitud menor que las control (Figura 4A), siendo significativa la diferencia entre la longitud de las plántulas tratadas con la concentración mayor del aceite esencial (1 $\mu\text{l/ml}$) y las dos menores (0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$). La longitud de las plántulas se redujo un 67.9, 67.5, 75.3 y 78.3% al aplicar las concentraciones de 0.125, 0.25, 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$, respectivamente. También en *C. album* el aceite esencial de *E. africanus* controló el crecimiento de las plántulas tratadas con todas las concentraciones con respecto a las control (Figura 4B), sin diferencias entre concentraciones, excepto entre la concentración de 0.5 y la de 1 $\mu\text{l/ml}$. El crecimiento de las plántulas fue inhibido desde un 44.1 hasta un 52.5%.

Figura 4. Efecto del aceite esencial de *E. africanus* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. album* (B).



4.3.4. *Cistus ladanifer* L.

El potencial herbicida del aceite esencial de *C. ladanifer* fue ensayado *in vitro* frente a *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*. Su actividad fue distinta según la arvense sobre la que actuó: inhibió completamente la germinación de *A. hybridus*, y controló casi totalmente la germinación de *C. canadensis* y *P. judaica* a todas las concentraciones probadas, sin diferencias entre ellas (Tabla 24). En *P. oleracea* redujo la germinación a las 3 dosis mayores empleadas (0.250, 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$), en un 12.8, 49.5 y 58.6% respectivamente. Sin embargo, no mostró un efecto significativo sobre la germinación de *C. album*.

Tabla 24. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con aceite esencial de *C. ladanifer*.

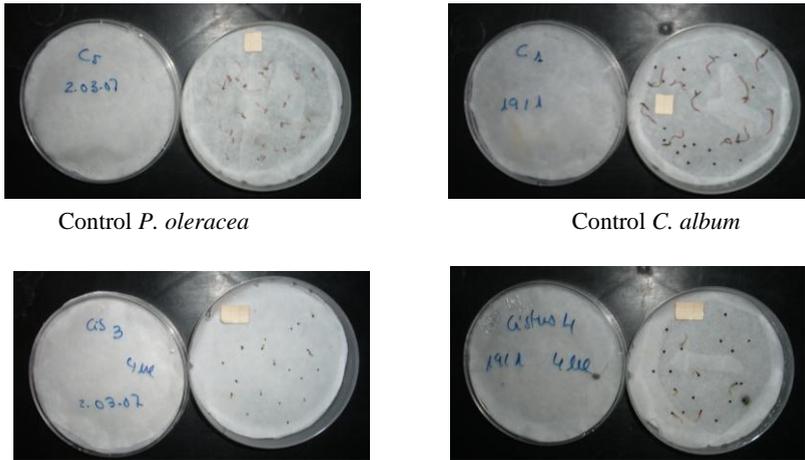
Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	96.0 \pm 2.9 a	99.0 \pm 1.0 a	42.0 \pm 6.0 a	95.0 \pm 3.2 a	27.0 \pm 4.1 a
0.125	0.0 \pm 0.0 b	90.0 \pm 4.2 ab	23.0 \pm 4.1 a	1.0 \pm 1.0 b	1.0 \pm 1.0 b
0.250	0.0 \pm 0.0 b	86.3 \pm 3.8 b	27.0 \pm 2.5 a	1.0 \pm 1.0 b	0.0 \pm 0.0 b
0.5	0.0 \pm 0.0 b	50.0 \pm 8.5 c	25.3 \pm 8.9 a	1.0 \pm 1.0 b	1.0 \pm 1.0 b
1	0.0 \pm 0.0 b	41.0 \pm 8.0 c	33.0 \pm 7.5 a	1.0 \pm 1.0 b	1.0 \pm 1.0 b

En cuanto a los efectos sobre el crecimiento de las plántulas, el aceite esencial de *C. ladanifer* se mostró activo, reduciéndolo en todas las especies. En *A. hybridus*, al no germinar semillas tratadas con este aceite esencial, sólo existen datos de plántulas control (Tabla 25). En *C. canadensis*, *P. judaica* y *C. album*, hubo diferencias entre el crecimiento de las plántulas control y las tratadas con las diferentes concentraciones del aceite esencial, sin diferencias significativas entre concentraciones (Tabla 25 y Figura 5A). La longitud de las plántulas tratadas se redujo entre un 93.8 y un 98.5% en *C. canadensis* y desde un 96.4 a un 97.7% en *P. judaica* (Tabla 25). En *C. album* el crecimiento de las plántulas se inhibió entre un 82 y un 86.3% (Figura 5A).

Tabla 25. Efecto del aceite esencial de *C. ladanifer* sobre la longitud de plántulas de *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

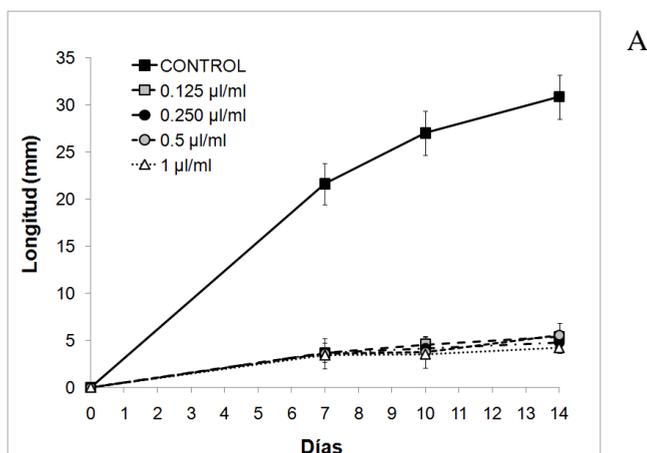
Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	21.79 \pm 1.24	4.54 \pm 0.36 a	16.85 \pm 1.68 a
0.125	-	0.25 \pm 0.25 b	0.61 \pm 0.61 b
0.250	-	0.28 \pm 0.28 b	-
0.5	-	0.07 \pm 0.07 b	0.59 \pm 0.59 b
1	-	0.07 \pm 0.07 b	0.39 \pm 0.39 b

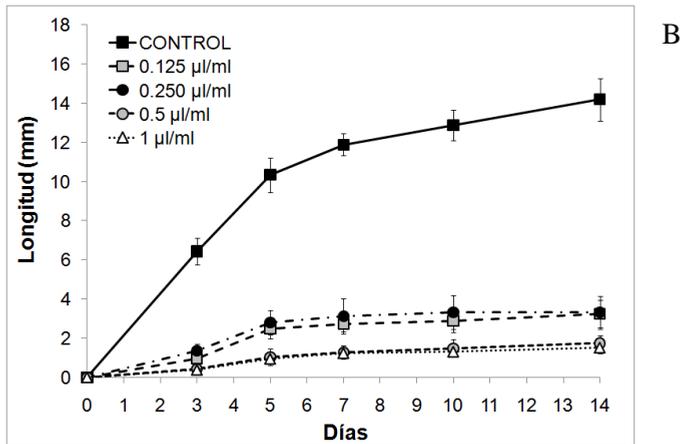
Las plántulas de *P. oleracea* tratadas con las dos concentraciones más bajas del aceite esencial de *C. ladanifer*, 0.125 y 0.250 $\mu\text{l/ml}$, mostraron diferencias significativas en la longitud con respecto a las plántulas tratadas con las concentraciones más altas, 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$ (Figura 5B). El crecimiento de las plántulas de *P. oleracea* se redujo desde un 76.6 a un 89.1%. El aceite esencial de *C. ladanifer* mostró un fuerte efecto fitotóxico, inhibiendo el crecimiento de todas las plántulas sobre las que se probó, que tenían un aspecto anormal y verdoso.



Plántulas de *P. oleracea* y *C. album* tratadas con la concentración máxima (1 $\mu\text{l/ml}$) de aceite esencial de *C. ladanifer*

Figura 5. Efecto del aceite esencial de *C. ladanifer* sobre el crecimiento de plántulas de *C. album* (A) y *P. oleracea* (B).





4.3.5. *Artemisia gallica* Willd.

El aceite esencial de *A. gallica* se ensayó *in vitro* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*, para verificar su potencial herbicida, mostrando gran actividad sobre *A. hybridus* y *P. judaica*, ya que inhibió completamente la germinación de ambas especies a todas las dosis aplicadas (Tabla 26). En *C. canadensis* inhibió fuertemente la germinación a todas las concentraciones ensayadas, llegando a controlarla totalmente la dosis de 0.250 µl/ml, sin diferencias significativas entre concentraciones (Tabla 26). No mostró efectos significativos sobre la germinación de *C. album* (Tabla 26). En *P. oleracea*, redujo la germinación de forma significativa sólo a las dos concentraciones mayores, con diferencias entre ellas, consiguiendo una reducción máxima del 57.6% la dosis de 1 µl/ml (Tabla 26).

Tabla 26. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con aceite esencial de *A. gallica*.

Concentración (µl/ml)	Germinación (%) ± e.s.				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	96.0 ± 2.9 a	99.0 ± 1.0 a	42.0 ± 6.0 a	95.0 ± 3.2 a	27.0 ± 4.1 a
0.125	0.0 ± 0.0 b	88.0 ± 3.4 ab	27.0 ± 4.9 a	3.0 ± 2.0 b	0.0 ± 0.0 b
0.250	0.0 ± 0.0 b	84.0 ± 5.3 ab	36.0 ± 3.3 a	0.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b
0.5	0.0 ± 0.0 b	74.0 ± 3.7 b	28.8 ± 5.5 a	1.0 ± 1.0 b	0.0 ± 0.0 b
1	0.0 ± 0.0 b	42.0 ± 16.9 c	26.0 ± 4.0 a	1.0 ± 1.0 b	0.0 ± 0.0 b

Al no germinar las semillas de *A. hybridus* y *P. judaica* tratadas con aceite esencial de *A. gallica*, en estas especies sólo se evaluó el crecimiento de las plántulas control (Tabla 27). En *C. canadensis*, todas las concentraciones probadas in-

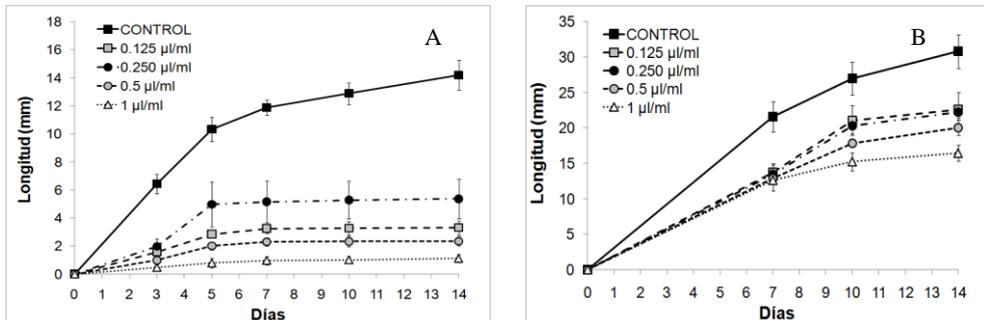
hibieron el crecimiento de las plántulas, sin diferencias entre ellas (Tabla 27). La máxima inhibición del crecimiento (95.6%) se logró con la concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$.

Tabla 27. Efecto del aceite esencial de *A. gallica* sobre la longitud de plántulas de *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Longitud (mm \pm e.s.)		
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	21.79 \pm 1.24	4.54 \pm 0.36 a	16.85 \pm 1.68
0.125	-	0.36 \pm 0.23 b	-
0.250	-	-	-
0.5	-	0.24 \pm 0.24 b	-
1	-	0.20 \pm 0.20 b	-

Sobre el crecimiento de *P. oleracea*, todas las concentraciones mostraron efecto con respecto al control, siendo significativas las diferencias en la longitud de las plántulas tratadas con las dos concentraciones menores y las dos concentraciones mayores del aceite. La máxima reducción del crecimiento fue del 92.2% (Figura 6A). Este aceite esencial inhibió significativamente el crecimiento de plántulas de *C. album* a todas las concentraciones probadas, de un 26.7 a un 46.6%, mostrando diferencias las dos concentraciones menores con la mayor (Figura 6B).

Figura 6. Efecto del aceite esencial de *A. gallica* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. album* (B).



4.3.6. *Artemisia annua* L.

Para evaluar el potencial herbicida del aceite esencial de *A. annua*, se ensayó *in vitro* contra *P. oleracea* y *C. canadensis*. No se observaron efectos significativos de este aceite esencial sobre la germinación (Tabla 28) ni sobre el crecimiento de *P. oleracea* (Tabla 29). En *C. canadensis*, no se observaron diferencias en la germinación de las semillas control y las tratadas con las concentraciones más bajas

del aceite, pero la concentración mayor (1 $\mu\text{l/ml}$) redujo la germinación un 96.3% (Tabla 28). Todas las concentraciones del aceite ensayadas controlaron el crecimiento de plántulas de *C. canadensis*. La longitud de las plántulas tratadas se redujo con respecto al control un 24, 17.4 (no significativo), 42.5 y 90.6%, a las concentraciones de 0.125, 0.25, 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$, respectivamente (Figura 7).

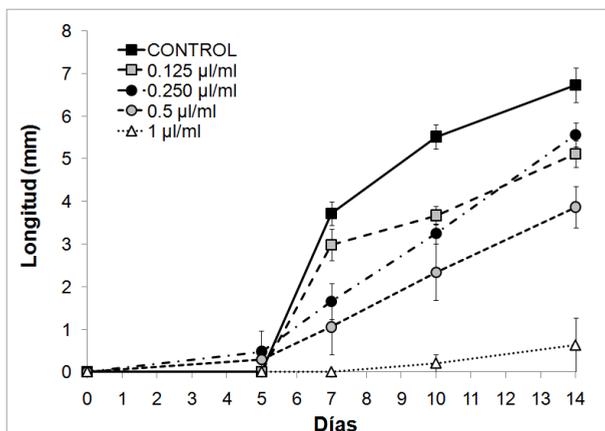
Tabla 28. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *A. annua*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	87.0 \pm 1.2 a	82.0 \pm 3.4 a
0.125	80.0 \pm 3.5 a	78.0 \pm 6.4 a
0.250	87.0 \pm 2.5 a	80.0 \pm 4.5 a
0.5	87.0 \pm 5.1 a	62.0 \pm 14.4 a
1	80.0 \pm 3.2 a	3.0 \pm 3.8 b

Tabla 29. Efecto del aceite esencial de *A. annua* sobre la longitud de plántulas de *P. oleracea*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Longitud (mm \pm e.s.)
	<i>Portulaca oleracea</i>
0 (control)	12.29 \pm 0.87 a
0.125	13.45 \pm 0.79 a
0.250	14.60 \pm 0.60 a
0.5	12.87 \pm 0.76 a
1	10.39 \pm 1.49 a

Figura 7. Efecto del aceite esencial de *A. annua* sobre el crecimiento de plántulas de *C. canadensis*.



4.3.7. *Lavandula angustifolia* Mill.

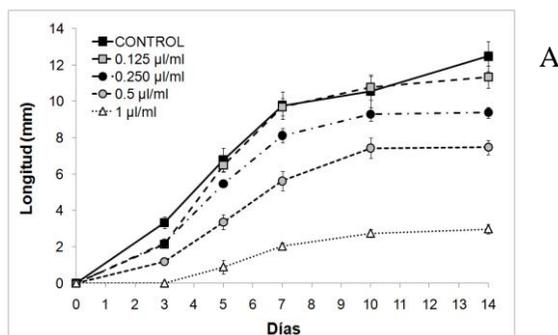
El aceite esencial de *L. angustifolia* se ensayó *in vitro* frente a *P. oleracea* y *C. canadensis* para evaluar su potencial herbicida. Sobre la germinación de *P. oleracea* mostró efecto únicamente a la dosis máxima (1 $\mu\text{l/ml}$), reduciendo la germinación un 19.3% (Tabla 30). En cambio, en *C. canadensis* esta concentración controló totalmente la germinación (Tabla 30). Sobre esta arvense, las tres concentraciones mayores del aceite esencial aplicadas inhibieron la germinación, existiendo diferencias significativas entre ellas. Las concentraciones de 0.25 y 0.5 $\mu\text{l/ml}$ redujeron la germinación un 35.4 y 85.4% respectivamente (Tabla 30).

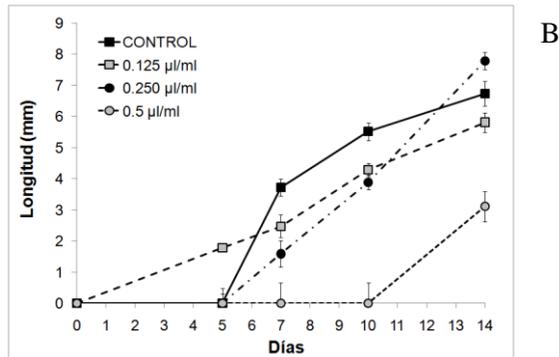
Tabla 30. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *L. angustifolia*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.0 \pm 2.0 a	82.0 \pm 3.4 a
0.125	78.8 \pm 3.8 ab	74.0 \pm 13.1 ab
0.250	86.0 \pm 4.3 a	53.0 \pm 10.9 b
0.5	85.0 \pm 1.3 a	12.0 \pm 5.1 c
1	71.0 \pm 5.8 b	0.0 \pm 0.0 d

Sobre el crecimiento de *P. oleracea*, este aceite esencial mostró efecto a las tres concentraciones mayores aplicadas, con diferencias significativas entre ellas. La longitud de las plántulas tratadas se redujo un 24.8, 59.9 y 76.1% a las concentraciones de 0.25, 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$ respectivamente (Figura 8A). Frente al crecimiento de *C. canadensis*, solamente la dosis de 0.5 $\mu\text{l/ml}$ fue activa, reduciendo la longitud de las plántulas tratadas un 53.8% con respecto a la de las plántulas control (Figura 8B). No se evaluó el crecimiento de plántulas tratadas con la concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$, al no germinar las semillas bajo esta dosis.

Figura 8. Efecto del aceite esencial de *L. angustifolia* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).





4.3.8. *Rosmarinus officinalis* L.

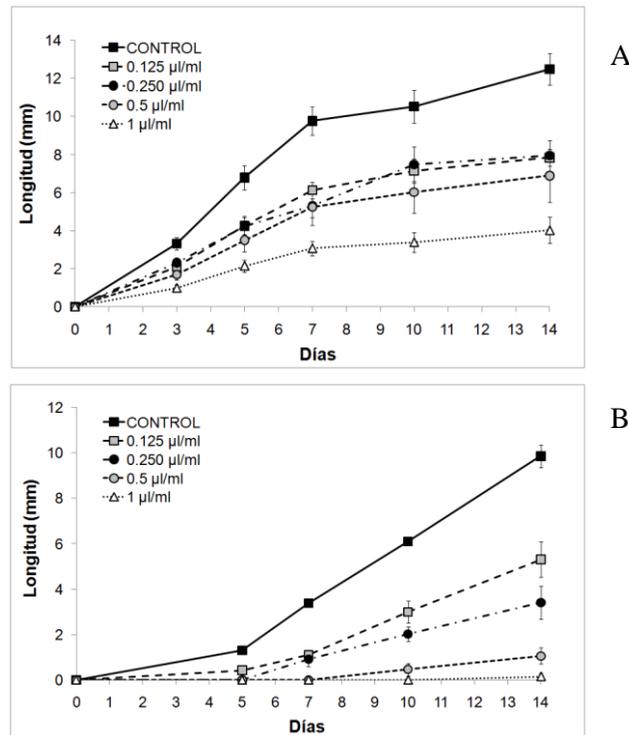
Para evaluar el potencial herbicida del aceite esencial de *R. officinalis*, se ensayó *in vitro* sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*. Este aceite no mostró gran efecto frente a *P. oleracea*, ya que únicamente inhibió su germinación a la dosis máxima aplicada (1 µl/ml), reduciéndola tan solo un 13.6% (Tabla 31). Sobre *C. canadensis* reveló mayor actividad, ya que las tres concentraciones mayores (0.25, 0.5 y 1 µl/ml) inhibieron significativamente su germinación, en un 40.4, 70.2 y 97.9% respectivamente (Tabla 31).

Tabla 31. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *R. officinalis*.

Concentración (µl/ml)	Germinación (%) ± e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.0 ± 2.0 a	94.0 ± 2.4 a
0.125	83.0 ± 1.2 ab	90.0 ± 4.2 a
0.250	88.0 ± 2.5 a	56.0 ± 9.1 b
0.5	81.0 ± 7.0 ab	28.0 ± 14.0 c
1	76.0 ± 4.0 b	2.0 ± 2.0 d

Sobre el crecimiento de ambas arvenses, este aceite fue efectivo a todas las concentraciones ensayadas. En *P. oleracea*, no se observaron diferencias significativas entre la longitud de las plántulas tratadas con las 3 dosis menores, que presentaban reducciones del 37.2, 36.3 y 44.7% con respecto al control, pero sí entre ellas y la concentración de 1 µl/ml, que inhibió el crecimiento de las plántulas un 67.7% (Figura 9A). En *C. canadensis* se constataron diferencias entre las longitudes de las plántulas tratadas con todas las concentraciones del aceite esencial (Figura 9B). El crecimiento de las plántulas disminuyó desde un 46.1 a un 98.5%.

Figura 9. Efecto del aceite esencial de *R. officinalis* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).



4.3.9. *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link.

Se ensayó el potencial herbicida del aceite esencial de *T. capitatus* obtenido en floración sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*. Debido a los buenos resultados obtenidos, y al hecho de que la planta en floración está disponible solamente por un periodo de tiempo determinado, se decidió ensayar asimismo el potencial herbicida del aceite esencial de *T. capitatus* obtenido de plantas en estado vegetativo frente a las mismas arvenses, para comparar su actividad, en vistas a su posible uso indistinto. Los resultados obtenidos por ambos aceites esenciales fueron muy semejantes, produciendo los mismos efectos al aplicarse a las concentraciones ensayadas. Por tanto, presentamos a continuación solamente los resultados mostrados por el aceite esencial de *T. capitatus* obtenido en floración.

El aceite esencial de *T. capitatus* produjo un fuerte efecto inhibitorio sobre la germinación de ambas arvenses, bloqueándola totalmente en *C. canadensis* a todas las concentraciones aplicadas (Tabla 32), y en *P. oleracea* a las dos concentraciones superiores (0.5 y 1 µl/ml), mientras que las concentraciones de 0.125 y 0.25 µl/ml también redujeron su germinación, un 47.1 y un 92% con respecto al control,

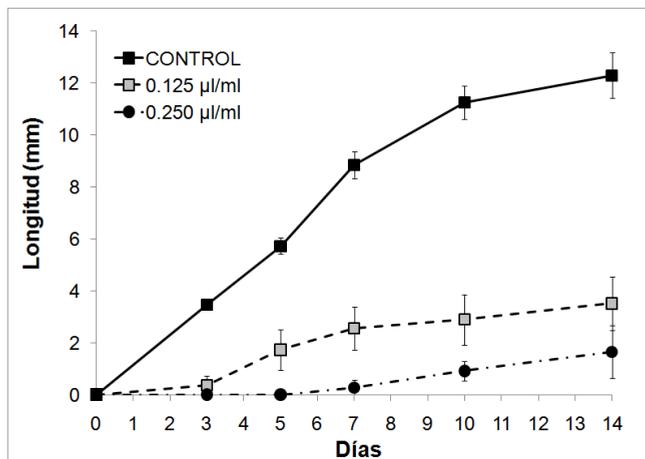
no siendo significativas las diferencias entre las concentraciones de 0.25, 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$ (Tabla 32).

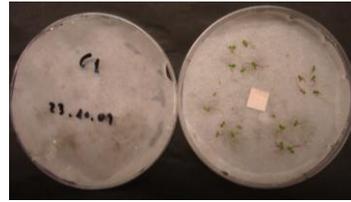
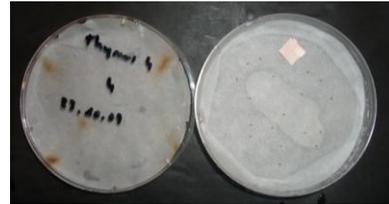
Tabla 32. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *T. capitatus*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	87.0 \pm 1.2 a	94.0 \pm 2.4 a
0.125	46.0 \pm 14.b	0.0 \pm 0.0 b
0.250	7.0 \pm 3.7 c	0.0 \pm 0.0 b
0.5	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 b
1	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 b

En cuanto a los efectos sobre el crecimiento de plántulas de estas arvenses, en *C. canadensis*, al no germinar ninguna de las semillas tratadas con las diferentes concentraciones del aceite esencial (Tabla 32), no se pudo evaluar la actividad sobre el crecimiento. De igual manera, en *P. oleracea*, al no germinar las semillas tratadas con las concentraciones mayores del aceite (0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$), no se dispone de datos de longitud de plántulas sometidas a esas dosis. Las plántulas tratadas con las concentraciones de 0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$ presentaron una longitud un 71.5 y un 86.2% menor que las control, sin haber diferencias significativas entre ambas concentraciones (Tabla 32 y Figura 10).

Figura 10. Efecto del aceite esencial de *T. capitatus* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*.



Control *P. oleracea*Control *C. canadensis*

Semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con la máxima concentración ensayada (1 $\mu\text{l/ml}$) de aceite esencial de *Thymus capitatus*.

4.3.10. *Tagetes lemmonii* A. Gray.

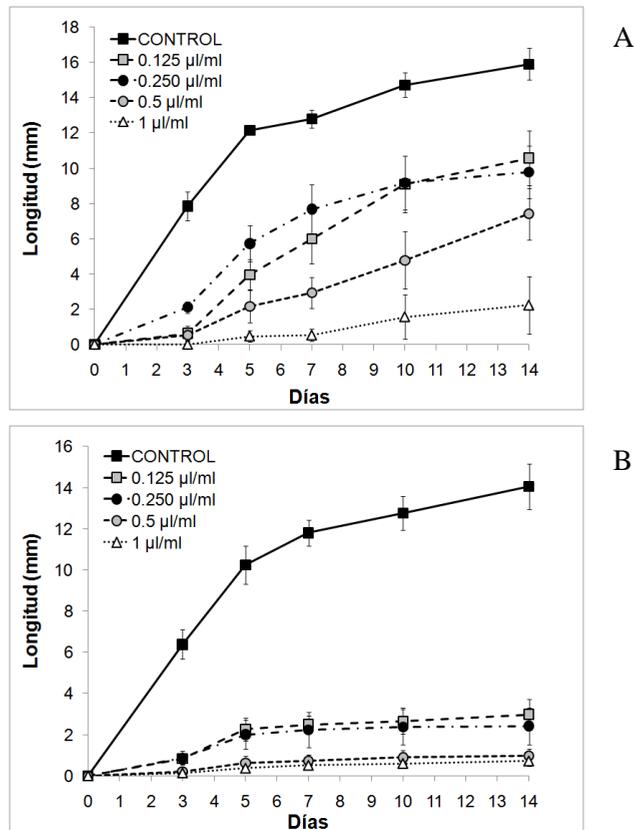
El aceite esencial de *T. lemmonii* se ensayó *in vitro* sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*, mostrando actividad herbicida contra ambas arvenses, controlando tanto su germinación (Tabla 33) como su crecimiento (Figura 11A y B). Frente a la germinación de *P. oleracea*, el aceite esencial de *T. lemmonii* sólo fue activo a las dos dosis mayores probadas, consiguiendo reducirla un 25.1% la concentración de 0.5 $\mu\text{l/ml}$ y un 95.7% la de 1 $\mu\text{l/ml}$. En cambio, todas las dosis de este aceite esencial controlaron la germinación de *C. canadensis*, sin haber diferencias significativas entre las concentraciones de 0.125, 0.25 y 0.5 $\mu\text{l/ml}$, que inhibieron la germinación desde un 70.5 a un 93.2%, pero sí las hubo entre las concentraciones de 0.125, 0.5 y la de 1 $\mu\text{l/ml}$. A esta última dosis se redujo la germinación un 97.7%.

En cuanto a los efectos del aceite de *T. lemmonii* sobre el crecimiento de las plántulas, en *P. oleracea*, todas las concentraciones del aceite fueron efectivas inhibiendo el crecimiento de la arvense (Figura 11A). Las 3 dosis menores redujeron la longitud de las plántulas desde un 33.5 a un 53.4%, sin haber diferencias significativas entre ellas, pero sí con la concentración mayor (1 $\mu\text{l/ml}$), que provocó una reducción en la longitud de las plántulas del 85.9%. Sobre el crecimiento de *C. canadensis*, este aceite esencial tuvo un efecto inhibitorio mayor, reduciéndose la longitud de las plántulas desde un 78.8% hasta un 94.9% (Figura 11B). Hubo diferencias estadísticamente significativas entre todas las concentraciones y el control, y entre la menor y la mayor concentración.

Tabla 33. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *T. lemmonii*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	89.0 \pm 2.9 a	44.0 \pm 10.2 a
0.125	90.0 \pm 2.0 a	13.0 \pm 4.4 b
0.250	90.0 \pm 2.7 a	3.0 \pm 2.0 bc
0.5	66.7 \pm 4.4 b	12.0 \pm 4.6 b
1	3.8 \pm 2.4 c	1.0 \pm 1.0 c

Figura 11. Efecto del aceite esencial de *T. lemmonii* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).



4.3.11. *Perlargonium odoratissimum* (L.) L'Hér.

Para evaluar el potencial herbicida del aceite esencial de *P. odoratissimum* se ensayó *in vitro* contra *P. oleracea* y *C. canadensis*, mostrando mayor actividad

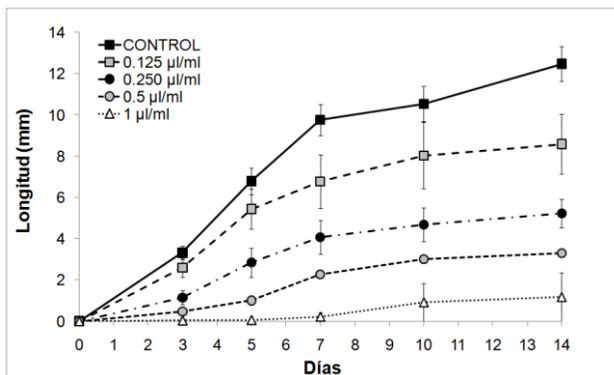
frente a la germinación de *C. canadensis*, ya que la inhibió totalmente a las dos concentraciones mayores aplicadas (0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$), mientras que las concentraciones menores (0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$) también fueron activas, reduciendo la germinación un 46.8 y 74.5 % respectivamente (Tabla 34). En cambio, sólo las dos concentraciones mayores del aceite esencial redujeron significativamente la germinación de *P. oleracea*, un 19.3 y un 96.6 %, respectivamente (Tabla 34).

Tabla 34. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *P. odoratissimum*.

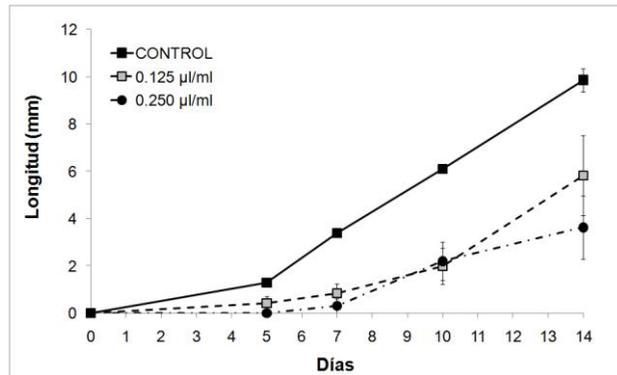
Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.0 \pm 2.0 a	94.0 \pm 2.4 a
0.125	81.0 \pm 2.4 ab	50.0 \pm 10.7 b
0.250	77.0 \pm 8.0 ab	24.0 \pm 10.0 c
0.5	71.0 \pm 4.3 b	0.0 \pm 0.0 d
1	3.0 \pm 3.0 c	0.0 \pm 0.0 d

Sobre el crecimiento de ambas arvenses todas las concentraciones de este aceite esencial fueron efectivas, reduciendo la longitud de las plántulas tratadas con respecto a las control (Figura 12A y B). En *C. canadensis*, al no germinar las semillas tratadas con las concentraciones 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$, no se evaluó el crecimiento de plántulas bajo estas dosis (Tabla 34, Figura 12B), mientras que las tratadas con las dosis 0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$ presentaron una inhibición del crecimiento del 41 y 63.2%, sin diferencias entre ellas. En *P. oleracea*, todas las concentraciones del aceite esencial redujeron la longitud de las plántulas, sin diferencias significativas en los efectos entre la concentración de 0.25 y 0.5 $\mu\text{l/ml}$, y entre la de 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$. El crecimiento de las plántulas se inhibió desde un 31.2 a un 90.6%.

Figura 12. Efecto del aceite esencial de *P. odoratissimum* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).



A



B

4.3.12. *Thymus vulgaris* L.

El potencial herbicida del aceite esencial de *T. vulgaris* se ensayó *in vitro* en *P. oleracea* y *C. canadensis*, siendo más activo frente a la germinación de *C. canadensis*, ya que todas las concentraciones fueron efectivas controlando la germinación, sin diferencias entre ellas, llegando a inhibirla totalmente las 3 concentraciones superiores (0.25, 0.5 y 1 µl/ml), mientras que la concentración menor (0.125 µl/ml) redujo la germinación un 79.5% (Tabla 35). En *P. oleracea*, este aceite inhibió la germinación a las 3 concentraciones mayores, 0.25, 0.5 y 1 µl/ml en un 32.4, 89.9 y 98.9% respectivamente, siendo significativas las diferencias entre la concentración de 0.25 µl/ml y las dos más elevadas (Tabla 35).

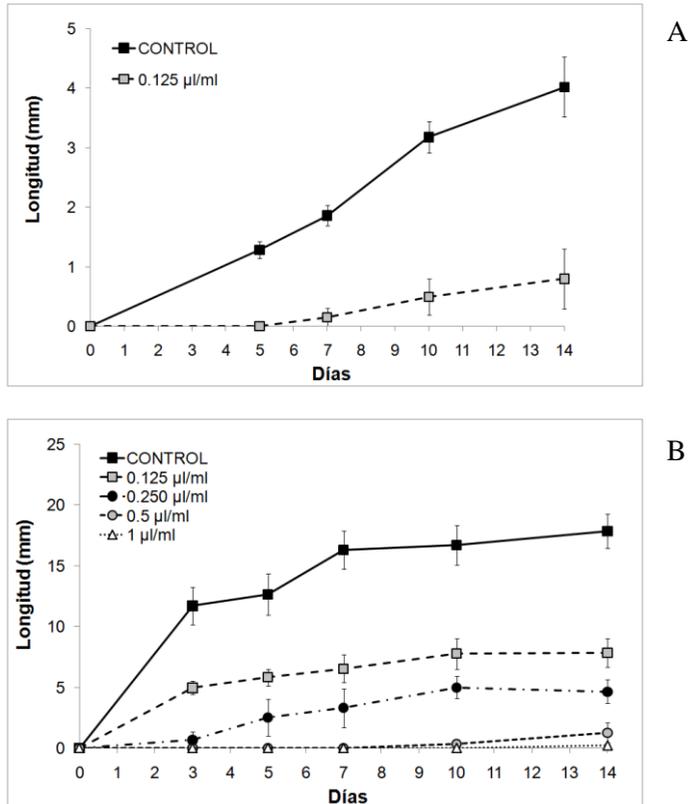
Tabla 35. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *T. vulgaris*.

Concentración (µl/ml)	Germinación (%) ± e.s.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.8 ± 5.5 a	68.3 ± 13.0 a
0.125	73.8 ± 9.7 ab	14.0 ± 11.7 b
0.250	60.0 ± 10.0 b	0.0 ± 0.0 b
0.5	9.0 ± 6.8 c	0.0 ± 0.0 b
1	1.0 ± 0.9 c	0.0 ± 0.0 b

En cuanto a los efectos sobre el crecimiento de las arvenses, en *C. canadensis*, al ser 0 la germinación de las semillas bajo las dosis 0.25, 0.5 y 1 µl/ml, no se evaluó el crecimiento de plántulas tratadas con dichas concentraciones del aceite esencial. Las plántulas tratadas con la concentración de 0.125 µl/ml presentaron una longitud un 80.1% menor que las control (Figura 13A). En *P. oleracea*, todas las concentraciones del aceite tuvieron un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de la arvense, siendo significativas las diferencias entre las dos concentraciones menores

y la de 1 $\mu\text{l/ml}$ y entre la de 0.125 $\mu\text{l/ml}$ y las dos mayores (0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$). Se inhibió el crecimiento de las plántulas desde un 56.2 a un 98.8% (Figura 13B).

Figura 13. Efecto del aceite esencial de *T. vulgaris* sobre el crecimiento de plántulas de *C. canadensis* (A) y *P. oleracea* (B).



4.3.13. *Origanum vulgare* L.

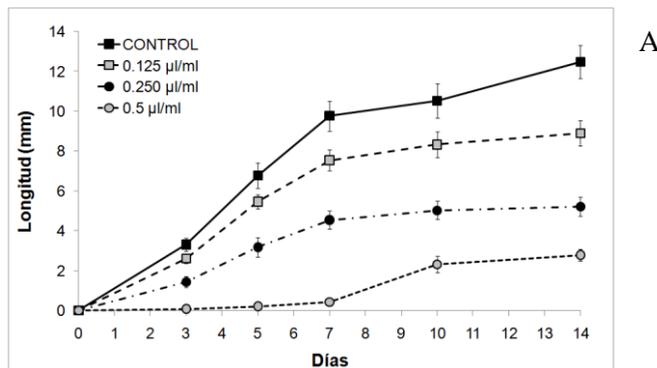
El aceite esencial de *O. vulgare* se ensayó *in vitro* frente a *P. oleracea* y *C. canadensis* para evaluar su potencial herbicida, mostrando gran actividad frente a ambas arvenses a las dos dosis mayores aplicadas (0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$), que inhibieron totalmente la germinación de *C. canadensis*, mientras en *P. oleracea* también la concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$ controló totalmente la germinación y la de 0.5 $\mu\text{l/ml}$ la redujo un 71.6% (Tabla 36). Las dosis más bajas (0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$) no tuvieron ningún efecto sobre la germinación de *P. oleracea* pero inhibieron la germinación de *C. canadensis* un 64.2 y 92.6%, respectivamente, no siendo significativas las diferencias entre la concentración de 0.25 $\mu\text{l/ml}$ y las dos superiores en *C. canadensis* (Tabla 36).

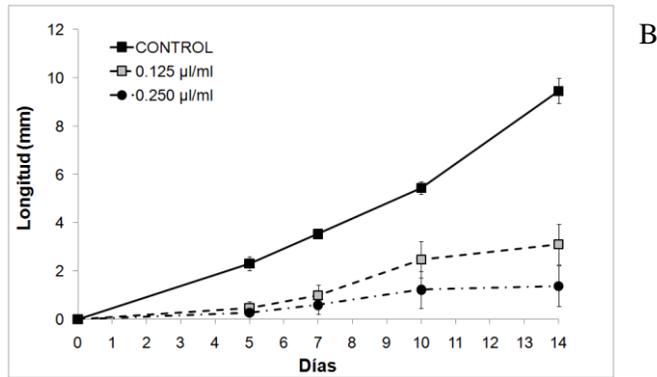
Tabla 36. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *O. vulgare*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (%) \pm es.	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.0 \pm 2.0 a	95.0 \pm 2.2 a
0.125	88.0 \pm 4.1 a	34.0 \pm 13.4 b
0.250	87.0 \pm 3.0 a	7.0 \pm 4.9 c
0.5	25.0 \pm 6.5 b	0.0 \pm 0.0 c
1	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c

Sobre el crecimiento de las dos arvenses, el aceite esencial de *O. vulgare* fue activo a todas las dosis aplicadas (Figura 14A y B). No se evaluó el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* tratadas con la concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$, ni de *C. canadensis* tratadas con las concentraciones de 0.5 y 1 $\mu\text{l/ml}$, al no germinar las semillas bajo estos tratamientos (Tabla 36, Figura 14A y B). En *P. oleracea*, hubo diferencias en la longitud de las plántulas tratadas con todas las concentraciones evaluadas (0.125, 0.25 y 0.5 $\mu\text{l/ml}$) y las plántulas control, siendo además significativas las diferencias en la longitud entre todas las concentraciones, que presentaron una reducción del 28.6, 58.2 y 77.6% respectivamente en comparación con las plántulas control (Figura 14A). En *C. canadensis*, también fueron significativas las diferencias en la longitud de las plántulas tratadas con las dosis de 0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$, que disminuyeron su crecimiento un 67.2 y 85.6% con respecto a las control (Figura 14B).

Figura 14. Efecto del aceite esencial de *O. vulgare* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).





4.4. Actividad fitotóxica *in vitro* de los extractos acuosos.

4.4.1. *Lantana camara* L.

El potencial herbicida del extracto acuoso de *L. camara* se ensayó *in vitro* frente a *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*, mostrando la mayor actividad frente a *C. canadensis*, ya que las concentraciones de 10, 30 y 50% inhibieron completamente su germinación, mientras que la de 100% la redujo un 77.8%, sin ser significativas estas diferencias (Tabla 37). En cambio, no mostró ningún efecto sobre la germinación y el crecimiento de *P. oleracea* y *P. judaica* (Tablas 37 y 38), ni sobre la longitud de plántulas de *C. canadensis* (Tabla 38).

Este extracto se mostró muy activo sobre la germinación de *C. album*, reduciéndola a todas las dosis probadas, siendo la máxima inhibición del 96.7% a las dos concentraciones mayores, sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 38), sin embargo, únicamente estas dos concentraciones tuvieron efecto sobre el crecimiento de la arvense, reduciendo la longitud de las plántulas un 14.9 y un 25.9% respectivamente (Figura 15B).



Plántulas de *C. album* control y tratadas con extracto de *L. camara* a 50 y 100%.

Finalmente, sólo las dos concentraciones superiores del extracto controlaron la germinación de *A. hybridus*, disminuyéndola un 53.3 y 64.4% respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 37), mientras que todas las concentra-

ciones inhibieron el crecimiento de las plántulas, logrando una reducción del desarrollo de las mismas hasta del 41.6%, a la dosis de 100% (Figura 15A).

Tabla 37. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con extracto acuoso de *L. camara*.

Concentración (%)	Germinación (% ± e.s.)				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	45.0 ± 2.7 a	74.0 ± 10.2 a	90.0 ± 3.2 a	36.0 ± 10.9 a	56.6 ± 5.0 a
10	34.0 ± 1.9 ab	68.0 ± 4.4 a	50.0 ± 3.9 b	0.0 ± 0.0 b	41.3 ± 6.2 a
30	32.0 ± 4.6 ab	78.0 ± 3.4 a	35.0 ± 5.5 c	0.0 ± 0.0 b	59.0 ± 3.4 a
50	21.0 ± 4.6 bc	67.0 ± 4.6 a	3.0 ± 1.2 d	0.0 ± 0.0 b	60.8 ± 7.2 a
100	16.0 ± 4.8 c	71.0 ± 6.0 a	3.0 ± 2.0 d	8.0 ± 4.6 b	42.5 ± 8.0 a

Figura 15. Efecto del extracto acuoso de *L. camara* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus* (A) y *C. album* (B).

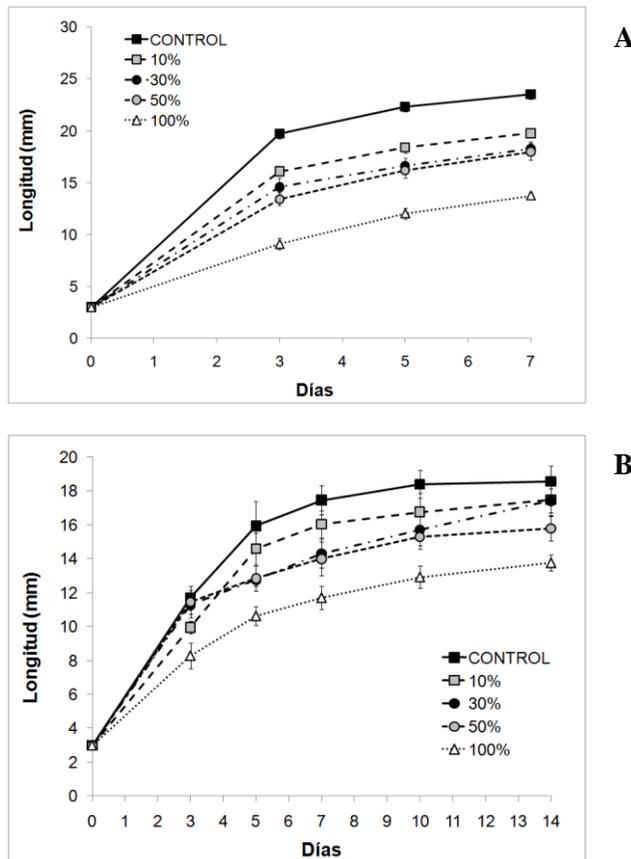


Tabla 38. Efecto del extracto acuoso de *L. camara* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración (%)	Longitud (mm ± e.s.)		
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	8.19 ± 0.49 a	1.79 ± 0.18 a	19.20 ± 1.79 a
10	7.80 ± 0.57 a	-	17.41 ± 0.69 a
30	8.20 ± 0.48 a	-	17.30 ± 1.64 a
50	9.13 ± 0.58 a	-	16.97 ± 1.20 a
100	7.49 ± 0.46 a	0.94 ± 0.43 a	22.04 ± 2.40 a

4.4.2. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

El potencial herbicida del extracto acuoso de *E. camaldulensis*, se ensayó *in vitro* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*, mostrando el mayor efecto en *C. canadensis*, ya que inhibió completamente su germinación a todas las concentraciones aplicadas (Tabla 39). En *A. hybridus* todas las concentraciones inhibieron la germinación (Tabla 39), sin ser significativas las diferencias entre las 3 dosis mayores, que mostraron gran actividad, reduciendo la germinación de *A. hybridus* desde un 95.6% hasta controlarla totalmente. Asimismo, todas las concentraciones de este extracto inhibieron el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, manifestando diferencias significativas en la longitud entre todas ellas, y siendo la mayor reducción del crecimiento observada del 63.6% (Figura 16A).

Solamente las dos concentraciones más elevadas del extracto (50 y 100%) tuvieron efecto inhibitorio sobre la germinación de *P. oleracea*, sin diferencias significativas entre ellas, reduciéndola un 44.6 y 47.3% respectivamente (Tabla 39). Igualmente, sólo estas dos concentraciones redujeron el crecimiento de las plántulas de *P. oleracea*, sin diferencias entre ellas, siendo la reducción máxima del 33.9% (Figura 16B).

Tabla 39. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con extracto acuoso de *E. camaldulensis*.

Concentración (%)	Germinación (% ± e.s.)				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	45.0 ± 2.7 a	74.0 ± 10.2 a	90.0 ± 3.2 a	36.0 ± 10.9 a	56.6 ± 5.0 a
10	22.0 ± 3.4 b	60.0 ± 8.9 ab	86.0 ± 3.7 a	0.0 ± 0.0 b	49.0 ± 4.0 a
30	2.0 ± 1.2 c	64.0 ± 4.3 ab	69.0 ± 6.8 b	0.0 ± 0.0 b	42.0 ± 2.5 a
50	0.0 ± 0.0 c	41.0 ± 9.8 b	63.0 ± 2.5 b	0.0 ± 0.0 b	45.0 ± 6.1 a
100	1.0 ± 1.0 c	39.0 ± 7.0 b	74.0 ± 4.0 b	0.0 ± 0.0 b	52.0 ± 5.1 a

Las 3 concentraciones mayores del extracto mostraron efecto inhibitorio sobre la germinación de *C. album*, siendo la reducción máxima del 30% (Tabla 39),

mientras que únicamente la concentración del 100% tuvo efecto sobre el crecimiento de plántulas de *C. album*, reduciendo la longitud de las mismas un 46% (Tabla 40).

Por último, en *P. judaica* este extracto no mostró ningún efecto, ni sobre su germinación (Tabla 39) ni sobre su crecimiento (Tabla 40).

Figura 16. Efecto del extracto acuoso de *E. camaldulensis* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus* (A) y *P. oleracea* (B).

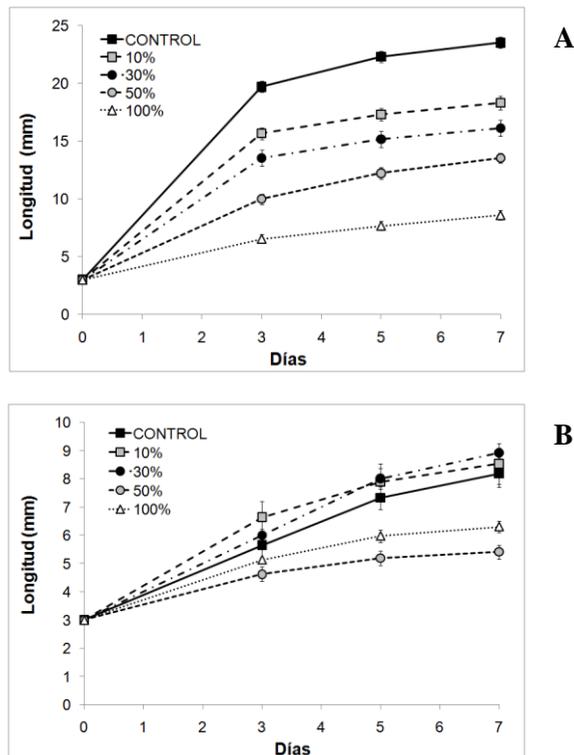


Tabla 40. Efecto del extracto acuoso de *E. camaldulensis* sobre el crecimiento de plántulas de *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración (%)	Longitud (mm ± e.s.)		
	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	18.44 ± 0.29 a	1.79 ± 0.18	19.20 ± 1.79 a
10	15.43 ± 0.73 a	-	16.36 ± 0.90 a
30	17.08 ± 1.25 a	-	22.00 ± 1.64 a
50	14.69 ± 0.75 a	-	17.55 ± 1.47 a
100	9.96 ± 0.47 b	-	16.90 ± 0.79 a

4.4.3. *Eriocephalus africanus* L.

Se estudió el potencial herbicida *in vitro* del extracto acuoso de *E. africanus* frente a *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*, mostrando la mayor actividad, al igual que en los extractos anteriores, sobre la germinación de *C. canadensis*, ya que fue prácticamente inhibida por completo a las concentraciones de 10-50%, sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 41). Extrañamente, a la concentración del 100% este extracto no mostró diferencias significativas con el control (Tabla 41). Sobre el crecimiento de plántulas de *C. canadensis* se manifestaron los mismos resultados (Tabla 42), siendo el máximo efecto inhibitorio conseguido por este extracto del 92.7%.

La germinación de *A. hybridus* fue completamente inhibida por el extracto de *E. camaldulensis* a la concentración del 100% (Tabla 41), sin mostrar diferencias la actividad de esta dosis con la de 50% (82.2% de inhibición). Todas las concentraciones redujeron significativamente la longitud de las plántulas (Figura 17), siendo la mayor reducción del crecimiento del 46.5%.

Todas las concentraciones del extracto inhibieron significativamente la germinación de *P. oleracea*, sin diferencias entre ellas (Tabla 41), logrando reducir la germinación entre un 48.6 y un 67.6%. Sin embargo el extracto no tuvo efecto sobre el crecimiento de plántulas de esta arvense (Tabla 42).

La germinación de *C. album* fue reducida por todas las concentraciones del extracto (Tabla 41), siendo la máxima inhibición del 53.3%, pero únicamente las dos concentraciones mayores redujeron el crecimiento de las plántulas, un 25.6 y un 50%, respectivamente (Tabla 42).

Tabla 41. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con extracto acuoso de *E. africanus*.

Concentración (%)	Germinación (% ± e.s.)				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	45.0 ± 2.7 a	74.0 ± 10.2 a	90.0 ± 3.2 a	36.0 ± 10.9 a	56.6 ± 5.0 a
10	30.0 ± 5.7 a	38.0 ± 9.8 b	72.0 ± 3.7 b	2.0 ± 1.2 b	29.1 ± 4.0 b
30	14.0 ± 7.0 b	36.0 ± 2.9 b	63.0 ± 3.4 bc	0.0 ± 0.0 b	26.9 ± 6.8 bc
50	8.0 ± 6.8 bc	29.0 ± 1.9 b	54.0 ± 5.3 cd	1.0 ± 1.0 b	8.2 ± 6.5 d
100	0.0 ± 0.0 c	24.0 ± 5.8 b	42.0 ± 9.2 d	39.0 ± 11.7 a	9.5 ± 2.8 cd

Sobre la germinación de *P. judaica* todas las concentraciones del extracto tuvieron efecto inhibitorio (Tabla 41), siendo la reducción máxima del 85.5% a la concentración del 50%, sin diferencias con la del 100% (83.2% de inhibición). Todas las concentraciones del extracto redujeron la longitud de las plántulas de *P. judaica* (Tabla 42), pero la longitud de las plántulas tratadas con el 50% no pre-

sentó diferencias significativas con respecto a la de las plántulas control. La concentración del 100% consiguió la mayor reducción del crecimiento, un 66.8% (Tabla 42).

Figura 17. Efecto del extracto acuoso de *E. africanus* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*.

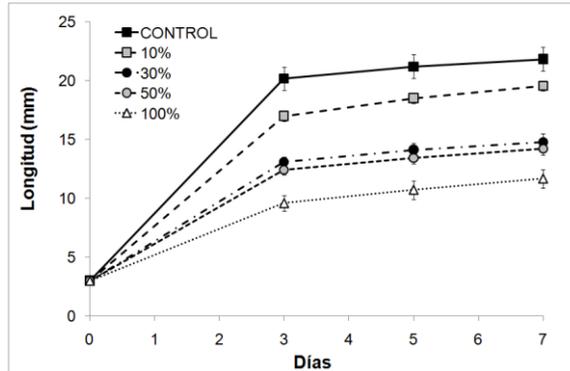


Tabla 42. Efecto del extracto acuoso de *E. africanus* sobre la longitud de plántulas de *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración (%)	Longitud (mm \pm e.s.)			
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	8.38 \pm 0.63 a	20.58 \pm 0.37 a	1.79 \pm 0.18 a	19.20 \pm 1.79 a
10	8.56 \pm 0.19 a	17.60 \pm 0.65 ab	0.97 \pm 0.59 b	10.11 \pm 1.31 bc
30	8.67 \pm 0.60 a	17.77 \pm 0.64 a	-	12.64 \pm 0.66 b
50	7.88 \pm 0.60 a	15.32 \pm 0.68 b	0.13 \pm 0.13 b	14.74 \pm 0.55 ab
100	7.00 \pm 0.77 a	10.30 \pm 0.42 c	2.37 \pm 0.30 a	6.37 \pm 0.51 c

4.4.4. *Cistus ladanifer* L.

Para evaluar el potencial herbicida del extracto acuoso de *C. ladanifer* se ensayó *in vitro* sobre *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*. Al igual que ocurría con el resto de extractos anteriores, la mayor actividad frente a la germinación se mostró en *C. canadensis*, ya que la concentración del 50% redujo la misma un 97.2%, sin haber diferencias significativas entre ésta y las concentraciones de 30 y 100% (Tabla 43), sin embargo este extracto no tuvo efectos sobre el crecimiento de plántulas de *C. canadensis* (Tabla 44), ni tampoco sobre las de *C. album* y *P. judaica* (Tabla 44). Sobre *C. album* el extracto no manifestó ningún efecto (Tablas 43 y 44), mientras que en *P. judaica* las dos concentraciones más altas redujeron la germinación un 32.9 y 36.4% (50 y 100%, respectivamente) sin diferencias entre ellas (Tabla 43).

Frente a la germinación de *P. oleracea*, el extracto no fue activo (Tabla 43), mientras que las concentraciones del 10 y 30% produjeron un efecto estimulador del crecimiento de sus plántulas (Tabla 44).

La concentración del 100% fue la más efectiva sobre la germinación de *A. hybridus*, reduciéndola un 21.1% (Tabla 43). Tanto esta concentración como la del 50% inhibieron el crecimiento de las plántulas, un 25.6 y 19.5% respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas (Figura 18).

Tabla 43. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con extracto acuoso de *C. ladanifer*.

Concentración (%)	Germinación (% ± e.s.)				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	97.0 ± 2.0 a	90.0 ± 5.2 a	78.0 ± 6.8 a	36.0 ± 10.9 a	56.6 ± 5.0 a
10	83.8 ± 6.0 bc	81.2 ± 5.8 a	76.0 ± 7.3 a	24.0 ± 7.8 ab	51.0 ± 5.6 ab
30	90.0 ± 1.6 bc	92.0 ± 3.0 a	82.0 ± 3.0 a	2.0 ± 1.2 c	49.0 ± 5.8 abc
50	96.9 ± 2.4 ab	92.0 ± 2.5 a	73.0 ± 3.4 a	1.0 ± 1.0 c	38.0 ± 5.4 bc
100	76.5 ± 3.4 c	75.0 ± 5.2 a	78.0 ± 4.9 a	7.0 ± 3.0 bc	36.0 ± 1.9 c

Figura 18. Efecto del extracto acuoso de *C. ladanifer* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*.

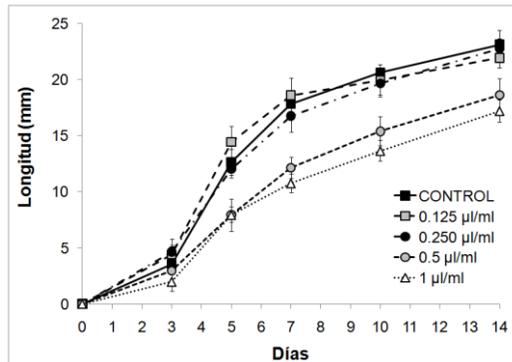


Tabla 44. Efecto del extracto acuoso de *C. ladanifer* sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración (%)	Longitud (mm ± e.s.)			
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	8.98 ± 0.24 b	20.05 ± 1.65 a	1.79 ± 0.18 a	19.20 ± 1.79 a
10	14.63 ± 0.94 a	18.55 ± 0.29 a	1.36 ± 0.35 a	21.15 ± 2.34 a
30	14.85 ± 0.79 a	18.87 ± 1.62 a	0.70 ± 0.44 a	20.23 ± 1.44 a
50	10.36 ± 0.70 b	18.74 ± 1.19 a	0.49 ± 0.49 a	16.94 ± 1.16 a
100	10.55 ± 0.68 b	15.33 ± 1.26 a	1.39 ± 0.60 a	14.95 ± 1.71 a

4.4.5. *Artemisia gallica* Willd.

La actividad herbicida del extracto acuoso de *A. gallica* se evaluó *in vitro* frente a *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*. Nuevamente la especie cuya germinación se vio más afectada fue *C. canadensis*, ya que todas las concentraciones la redujeron drásticamente, sin diferencias significativas entre ellas (Tabla 45), llegando a inhibirla completamente (concentraciones 10 y 100%). Este extracto no tuvo ningún efecto sobre la germinación de *P. oleracea*, *C. album* y *P. judaica* (Tabla 45). Sólo las dos concentraciones mayores (50 y 100%) inhibieron la germinación de *A. hybridus*, un 27.9 y 63.9% respectivamente, siendo significativa la diferencia entre ellas (Tabla 45).

Las concentraciones de 30 y 50% inhibieron el crecimiento de plántulas de *C. canadensis* un 71.4 y 78.7%, sin diferencias entre ellas (Tabla 46). No hubo efectos significativos del extracto sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *C. album* y *P. judaica*, mientras que todas las concentraciones estimularon el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (Tabla 46).

Tabla 45. Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* tratadas con extracto acuoso de *A. gallica*.

Concentración (%)	Germinación (% ± e.s.)				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	97.0 ± 2.0 a	90.0 ± 5.2 a	78.0 ± 6.8 a	93.0 ± 3.4 a	67.1 ± 4.6 a
10	86.7 ± 6.3 ab	97.0 ± 1.2 a	88.0 ± 3.0 a	0.0 ± 0.0 b	53.7 ± 8.3 a
30	91.0 ± 4.6 ab	94.0 ± 2.4 a	82.0 ± 3.4 a	3.0 ± 3.0 b	36.0 ± 8.6 a
50	70.0 ± 8.9 b	91.0 ± 1.0 a	68.8 ± 3.4 a	3.0 ± 3.0 b	48.2 ± 7.1 a
100	35.0 ± 10.6 c	97.0 ± 2.0 a	73.8 ± 3.8 a	0.0 ± 0.0 b	36.2 ± 8.8 a

Tabla 46. Efecto del extracto acuoso de *A. gallica* sobre la longitud de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*.

Concentración (%)	Longitud (mm ± e.s.)				
	<i>Amaranthus hybridus</i>	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Chenopodium album</i>	<i>Conyza canadensis</i>	<i>Parietaria judaica</i>
0 (control)	23.13 ± 0.51 a	8.98 ± 0.24 d	20.05 ± 1.65 ab	3.71 ± 0.34 a	20.32 ± 1.72 ab
10	22.32 ± 1.21 a	18.26 ± 0.84 a	23.67 ± 0.87 a	-	26.60 ± 4.00 a
30	23.17 ± 1.11 a	16.23 ± 1.78 ab	23.35 ± 1.60 a	1.06 ± 0.15 b	28.07 ± 2.86 a
50	18.30 ± 1.19 a	13.15 ± 0.68 c	21.89 ± 1.34 a	0.79 ± 0.13 b	14.54 ± 1.58 b
100	19.57 ± 2.18 a	13.85 ± 0.88 bc	17.95 ± 0.47 b	-	22.23 ± 3.54 ab

4.5. Actividad fitotóxica *in vitro* de compuestos patrón presentes en los aceites esenciales.

El potencial herbicida *in vitro* de algunos compuestos patrón presentes en la composición de varios de los aceites esenciales utilizados se verificó, para analizar

su influencia en la actividad herbicida del aceite esencial. Entre ellos, se probó el eucaliptol (1,8-cineol), que se encontraba en cantidades variables, desde trazas (aceite esencial de *T. capitatus* en floración) hasta como compuesto mayoritario (aceite esencial de *R. officinalis*) en la mayoría de los aceites esenciales utilizados (datos en %): *E. camaldulensis*, tanto de Valencia (1.92), como de Sparacia (Sicilia) (4.23), *E. africanus* (0.06), *C. ladanifer* (0.10), *A. gallica* (0.15), *A. annua* (2.34), *L. angustifolia* (9.16), *R. officinalis* (33.65), *T. capitatus* en floración (trazas), *P. odoratissimum* (1.34), *T. vulgaris* (3.98), *O. vulgare* (1.43). También se probó el carvacrol, compuesto mayoritario en tres de los aceites esenciales que mostraron mayor actividad herbicida, el de *T. capitatus* en estado vegetativo (65.55) y en floración (77.02), y el de *O. vulgare* (29.16), encontrándose además en los aceites esenciales de *E. camaldulensis*, tanto de Valencia (0.98) como de Sparacia (Sicilia) (0.75), *C. ladanifer* (0.10), *R. officinalis* (trazas), *T. lemmonii* (trazas) y *T. vulgaris* (2.69). Por último se probó también el eugenol, compuesto presente en trazas en los aceites esenciales de *C. ladanifer*, *A. gallica* de Puzol, *A. annua* y *R. officinalis*, y en un 1.77% en el aceite esencial de *T. capitatus* en floración.

4.5.1. Eucaliptol.

El potencial herbicida del eucaliptol (1,8-cineol) se ensayó *in vitro* frente a *P. oleracea* y *C. canadensis*. No mostró efectos significativos ni sobre la germinación (Tabla 47) ni sobre el crecimiento (Tabla 48) de *P. oleracea*, no teniendo actividad herbicida sobre esta arvense a las concentraciones aplicadas, mientras que en *C. canadensis*, todas las dosis probadas fueron efectivas, inhibiendo tanto su germinación como su crecimiento (Tabla 47, Figura 19). No hubo diferencias significativas en la germinación de *C. canadensis* entre las 3 dosis menores, reduciéndola hasta un 35.1% con respecto al control, mientras que la concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$, más activa, inhibió la germinación un 86.3% (Tabla 47).

Tabla 47. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con eucaliptol.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (% \pm e.s.)	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.8 \pm 5.5 a	95.0 \pm 2.2 a
0.125	83.0 \pm 6.4 a	53.0 \pm 12.6 b
0.250	85.0 \pm 3.5 a	50.0 \pm 11.2 b
0.5	80.0 \pm 2.7 a	61.7 \pm 5.6 b
1	80.0 \pm 3.2 a	13.0 \pm 4.1 c

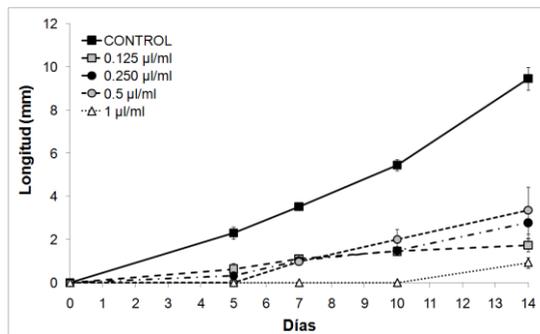
Todas las concentraciones de eucaliptol probadas inhibieron el crecimiento de *C. canadensis* (Figura 19). La longitud de las plántulas se redujo de un 64.4 a un

90.1%, siendo significativas las diferencias entre la concentración de 1 $\mu\text{l/ml}$ y las de 0.25 y 0.5 $\mu\text{l/ml}$.

Tabla 48. Efecto del eucaliptol sobre la longitud de plántulas de *P. oleracea*.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Longitud (mm \pm e.s.)
	<i>Portulaca oleracea</i>
0 (control)	17.86 \pm 1.41 a
0.125	18.57 \pm 0.84 a
0.250	19.61 \pm 0.85 a
0.5	18.28 \pm 1.34 a
1	18.57 \pm 1.30 a

Figura 19. Efecto del eucaliptol sobre el crecimiento de *C. canadensis*.



4.5.2. Carvacrol.

El potencial herbicida del carvacrol se ensayó *in vitro* sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*, mostrando gran actividad, al impedir la germinación de ambas arvenses a todas las concentraciones aplicadas (Tabla 49). No se evaluaron los efectos del carvacrol sobre el crecimiento de plántulas al no germinar ninguna de las semillas tratadas.

Tabla 49. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con carvacrol.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (% \pm e.s.)	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.8 \pm 5.5 a	95.0 \pm 2.2 a
0.125	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b
0.250	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b
0.5	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b
1	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b

4.5.3. Eugenol.

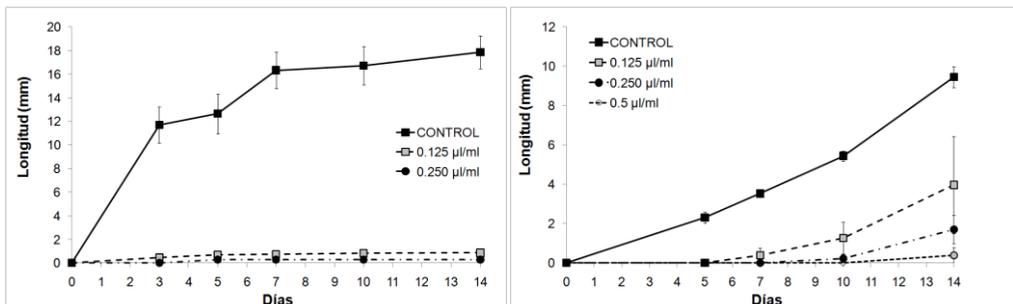
El eugenol patrón se ensayó sobre *P. oleracea* y *C. canadensis* para estudiar su potencial herbicida, mostrando efecto inhibitorio todas las concentraciones aplicadas sobre la germinación de ambas arvenses (Tabla 50). En *P. oleracea* las dos concentraciones mayores inhibieron totalmente la germinación, mientras que las dos menores la redujeron un 64 y 94.4% respectivamente. En *C. canadensis*, la dosis máxima controló completamente la germinación, mientras que las 3 menores la disminuyeron desde un 52.6 a un 96% (Tabla 50).

Tabla 50. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con eugenol.

Concentración ($\mu\text{l/ml}$)	Germinación (% \pm e.s.)	
	<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
0 (control)	88.8 \pm 5.5 a	95.0 \pm 2.2 a
0.125	32.0 \pm 10.9 b	45.0 \pm 22.1 b
0.250	5.0 \pm 5.0 c	23.0 \pm 15.9 bc
0.5	0.0 \pm 0.0 c	3.8 \pm 3.8 c
1	0.0 \pm 0.0 c	0.0 \pm 0.0 c

En cuanto a los efectos del eugenol sobre el crecimiento de ambas arvenses, en *P. oleracea*, al no germinar las semillas tratadas con las dos concentraciones mayores (Tabla 50), no se evaluó el crecimiento de plántulas sometidas a esas dosis, mientras que las tratadas con 0.125 y 0.25 $\mu\text{l/ml}$ presentaron una longitud un 95.2 y 98.3% menor que las control (Figura 20A). En *C. canadensis*, no se evaluó la longitud de plántulas tratadas con la máxima concentración, al no producirse germinación de semillas bajo esa dosis (Tabla 50). Las plántulas tratadas con el resto de concentraciones presentaron una inhibición del crecimiento de hasta el 93% (Figura 20B). No se constataron diferencias significativas entre las distintas concentraciones en el crecimiento de plántulas de ninguna de las dos arvenses (Figura 20A y B).

Figura 20. Efecto del eugenol sobre el crecimiento de plántulas de *P. oleracea* (A) y *C. canadensis* (B).



4.6. Reversibilidad de los efectos inhibitorios producidos por aceites esenciales y compuestos patrón *in vitro*.

Las únicas semillas de *P. oleracea* que no germinaron al ser transferidas a agua fueron las previamente tratadas con aceite esencial de *O. vulgare* a 1 µl/ml (Tabla 51). Las semillas de *C. canadensis* que no recuperaron la capacidad germinativa fueron las tratadas con aceites esenciales de *T. capitatus* en estado vegetativo a 0.250 y 0.5 µl/ml y *O. vulgare* a 0.125 y 0.25 µl/ml y con carvacrol a 0.125, 0.25 y 1 µl/ml (Tabla 51).

Los porcentajes de germinación de las semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* germinadas al transferirlas en agua fueron bajos (Tabla 51), no superando en *P. oleracea* el 35% (semillas tratadas con aceite esencial de *E. camaldulensis* a 0.125 µl/ml), mientras que en *C. canadensis* no superaron el 17.5% (aceite esencial de *T. capitatus* en estado vegetativo a 0.125 µl/ml). Las semillas germinadas generaron plántulas poco viables, debilitadas, con aspecto verdoso y anormal.

Tabla 51. Germinación de semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceites esenciales y compuestos patrón transferidas a agua.

Tratamiento previo	Concentración ensayo previo (µl/ml)	Germinación (% ± e.s.)	
		<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Conyza canadensis</i>
Aceite esencial	0.125	-	-
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> (Palermo)	0.250	35.0 ± -*	-
	0.5	21.3 ± 9.0	-
	1	2.5 ± 2.5	-
Aceite esencial	0.125	28.3 ± 1.7	17.5 ± 11.3
<i>Thymus capitatus</i>	0.250	20.0 ± 4.0	0.0 ± 0.0
estado vegetativo	0.5	11.3 ± 8.0	0.0 ± 0.0
	1	12.0 ± 4.9	1.3 ± 1.3
Aceite esencial	0.125	-	-
<i>Pelargonium odoratissimum</i>	0.250	-	-
	0.5	-	-
	1	6.0 ± 6.0	-
Aceite esencial	0.125	-	0.0 ± -*
<i>Origanum vulgare</i>	0.250	-	0.0 ± 0.0
	0.5	32.0 ± 7.5	1.0 ± 1.0
	1	0.0 ± 0.0	11.0 ± 6.0
Carvacrol	0.125	2.0 ± 1.2	0.0 ± 0.0
	0.250	1.0 ± 1.0	0.0 ± 0.0
	0.5	2.0 ± 1.2	3.0 ± 1.2
	1	2.0 ± 1.2	0.0 ± 0.0
Eugenol	0.125	22.5 ± 17.5	7.5 ± 7.5
	0.250	6.0 ± 4.8	5.0 ± 0.0
	0.5	4.0 ± 2.4	1.3 ± 1.3
	1	3.0 ± 3.0	3.0 ± 1.2

*sin inferencia estadística.

4.7. Actividad fitotóxica de extractos acuosos y aceites esenciales en invernadero.

4.7.1. Actividad herbicida de extractos acuosos.

Se llevaron a cabo 2 ensayos de invernadero para verificar el potencial herbicida mostrado *in vitro* por los extractos acuosos. En el primero se evaluaron los extractos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus*, y en el segundo el de *C. ladanifer*.

Desde la semana 1 (Figura 21), se observaron diferencias significativas en el número de arvenses contabilizadas en las bandejas tratadas con *E. africanus* (4.3 ± 1.8) y *E. camaldulensis* (6.0 ± 2.3), con respecto a las control (35.7 ± 11.5) y las tratadas con *L. camara* (30.7 ± 6.8). Estas diferencias se mantuvieron hasta la cuarta semana, en la que se constataron diferencias significativas entre todos los tratamientos y el control, teniendo menor efecto el extracto de *L. camara*, ya que redujo en un 21.3% el número de arvenses con respecto al control, mientras que *E. africanus* y *E. camaldulensis* inhibieron el desarrollo de arvenses un 52.5 y 38.4% con respecto al control. En la quinta semana se redujeron las diferencias (el extracto de *L. camara* se igualó en número de arvenses con el control), y la sexta semana no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, por lo que el efecto de los dos extractos más activos, *E. africanus* y *E. camaldulensis* se puede estimar en unas 6 semanas.

Si se considera el número de gramíneas y de dicotiledóneas por separado, el efecto de los extractos sobre las gramíneas finalizaría en la semana 5, ya que en esta semana no hubo diferencias significativas en el número de gramíneas contabilizado en las bandejas tratadas con los diferentes extractos y las control, mientras que las diferencias en el número de dicotiledóneas se mantendrían hasta la semana 8, entre las bandejas control y las tratadas con extracto de *E. africanus* y *E. camaldulensis*.

Aunque el peso fresco y seco de las plántulas recolectadas de las bandejas tratadas con *E. africanus*, *E. camaldulensis* y *L. camara* fue menor que el de las extraídas de las bandejas control, estas diferencias no fueron significativas (Tabla 52).

Tabla 52. Efecto de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus* sobre la biomasa de arvenses en ensayo de invernadero.

Tratamiento	Peso plantas extraídas (g \pm e.s.)	
	Fresco	Seco
Control	171.2 \pm 7.8 a	22.5 \pm 1.3 a
<i>Lantana camara</i>	153.4 \pm 2.7 a	19.5 \pm 0.5 a
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	136.9 \pm 26.8 a	18.0 \pm 3.7 a
<i>Eriocephalus africanus</i>	149.6 \pm 12.1 a	16.6 \pm 0.4 a

Las condiciones de temperatura y humedad relativa registradas en el invernadero durante la realización de este ensayo se muestran en la Figura 22.

Figura 21. Valores medios de arvenses contabilizadas en bandejas control y tratadas con extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus*.

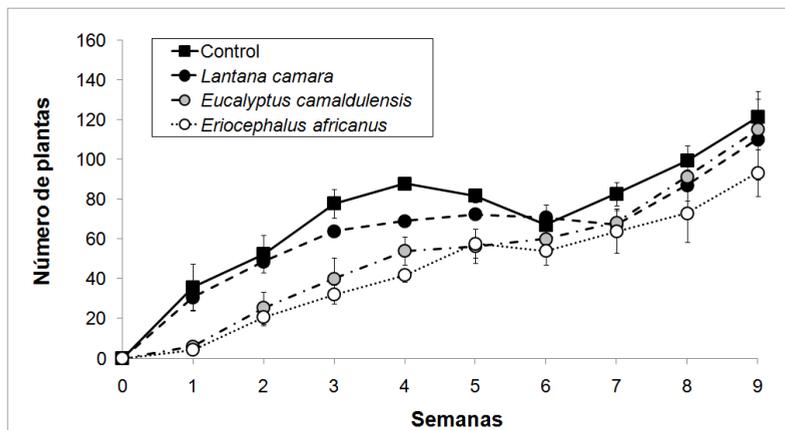
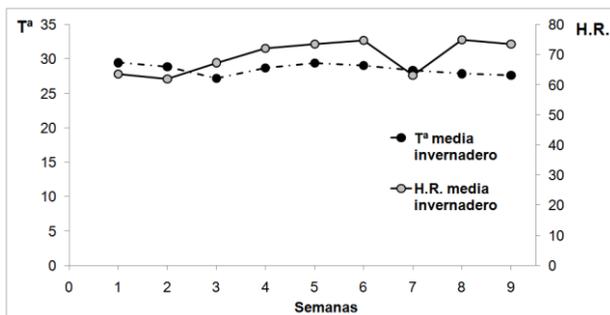


Figura 22. Temperatura y humedad relativa medias registradas en el invernadero durante la realización del ensayo de actividad herbicida de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus*.



El extracto de *C. ladanifer* no mostró apenas actividad herbicida en invernadero. Sólo hubo diferencias en el número de arvenses contabilizadas entre las bandejas tratadas con este extracto y las control en la primera semana tras la aplicación del tratamiento. Aunque el peso fresco y seco de las plantas extraídas de bandejas tratadas con extracto de *C. ladanifer* fue menor que el de las extraídas de bandejas control, al igual que sucedió con los otros extractos acuosos, las diferencias no fueron significativas (Tabla 53). En la Figura 24 se recogen las condiciones de temperatura y humedad relativa registradas en el invernadero durante la realización de este ensayo.

Tabla 53. Efecto del extracto acuoso de *C. ladanifer* sobre la biomasa de arvenses en ensayo de invernadero.

Tratamiento	Peso plantas extraídas (g ± e.s.)	
	Fresco	Seco
Control	18.9 ± 6.8 a	3.2 ± 1.2 a
<i>Cistus ladanifer</i>	7.9 ± 4.9 a	1.2 ± 0.9 a



Bandejas control y tratadas con extractos de *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* y *Eriosephalus africanus* en invernadero a las 3 y a las 4 semanas después de la aplicación de los tratamientos.

4.7.2. Actividad herbicida de aceites esenciales.

Se realizó un ensayo en invernadero para evaluar el potencial herbicida de los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *E. africanus*. Se utilizaron estos aceites debido a la actividad mostrada *in vitro* y a la disponibilidad de planta para la obtención de las cantidades de aceite esencial requeridas para el ensayo. La dosis probada en ambos aceites fue 0.5 µl/ml, ya que no hubo diferencias significativas entre la actividad de las concentraciones de 0.5 y 1 µl/ml sobre las arvenses ensayadas *in vitro*, excepto en el caso del aceite de *E. camaldulensis* sobre *C. album*.

No mostraron actividad herbicida en invernadero ninguno de los dos aceites esenciales. No se constataron diferencias significativas en el número de arvenses contabilizadas en las bandejas tratadas con los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *E. africanus* y las control en ningún momento del ensayo (Figura 23). Tampoco fueron significativas las diferencias en cuanto al peso fresco y seco de las plantas extraídas de las distintas bandejas durante el ensayo (Tabla 54), aunque el peso de las tratadas con *E. africanus* fue notablemente menor.

Tabla 54. Efecto de los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *E. africanus* sobre la biomasa de arvenses en ensayo de invernadero.

Tratamiento	Peso plantas extraídas (g ± e.s.)	
	Fresco	Seco
Control	18.9 ± 6.8 a	3.2 ± 1.2 a
Control con Tween	17.7 ± 10.4 a	3.0 ± 1.5 a
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	15.3 ± 4.0 a	2.2 ± 0.3 a
<i>Eriosephalus africanus</i>	5.7 ± 3.5 a	0.8 ± 0.3 a

En la Figura 24 se recogen las condiciones de temperatura y humedad relativa registradas en el invernadero durante la realización de este ensayo.

Figura 23. Valores medios de arvenses contabilizadas en bandejas control, control con Tween y tratadas con aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *E. africanus*.

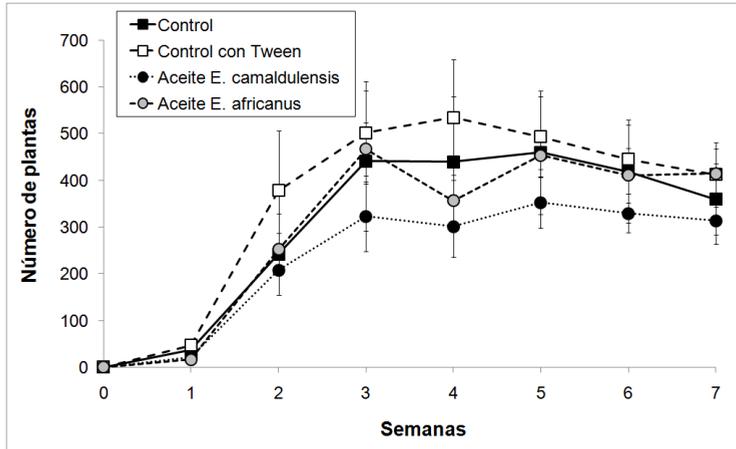
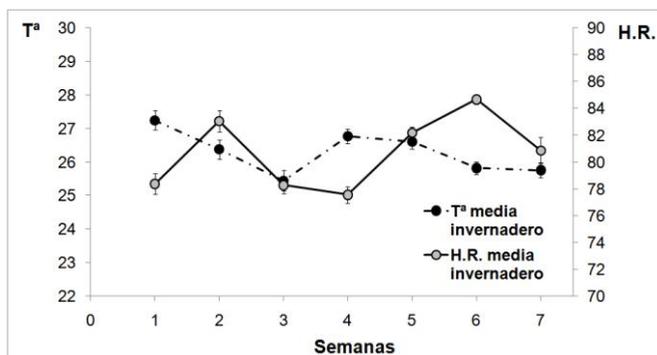


Figura 24. Temperatura y humedad relativa medias registradas en el invernadero durante la realización del ensayo de actividad herbicida del extracto acuoso de *C. ladanifer* y los aceites esenciales de *E. camaldulensis* y *E. africanus*.



4.7.3. Fitotoxicidad de aceites esenciales y compuestos patrón sobre cultivos.

No se constataron efectos fitotóxicos sobre ninguna plántula de *Vicia faba* var. *minor*, *Triticum durum*, *Hordeum vulgare*, *Avena sativa*, *Cicer arietinum*, *Vicia sativa* y *Lens culinaris* tratada con los aceites esenciales de *E. camaldulensis* de Palermo, *L. angustifolia*, *T. capitatus* en estado vegetativo, *P. odoratissimum* y *O.*

vulgare, o con los compuestos puros carvacrol y eugenol, ni a las 24 ni a las 48h tras la aplicación.

4.8. Actividad herbicida de extractos acuosos en campo.

Se ensayó en campo el potencial herbicida de los extractos acuosos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus*. A partir de la octava semana (Figura 25), se observaron diferencias entre tratamientos, siendo significativamente menor el número de plantas en los cuadros tratados con extracto de *E. africanus* (44.4% de inhibición de la germinación de arvenses en la octava semana llegando hasta el máximo de 68.9% cinco semanas después). *E. camaldulensis* tuvo un efecto menor, mostrando las mayores diferencias con el control también en la decimotercera semana, con un 39.6% de inhibición. El extracto de *L. camara* no controló la germinación de plántulas, la estimuló un 36.0% (semana 16).

El ensayo finalizó la decimosexta semana, al igualarse el número de plantas crecidas en los cuadros control y los tratados con los extractos de *E. africanus* y *E. camaldulensis*. No se registraron diferencias significativas en cuanto al peso fresco y seco de las plantas extraídas de los distintos cuadros durante el ensayo (Tabla 55).

Figura 25. Valores medios de arvenses contabilizadas en cuadros control y tratados con extractos de *L. camara*, *E. camaldulensis* y *E. africanus* en campo.

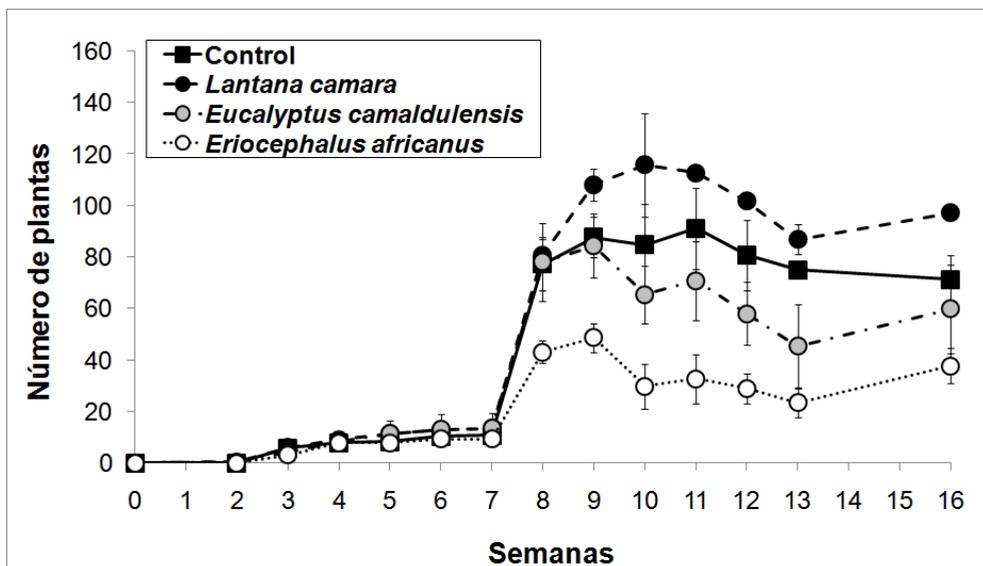


Tabla 55. Efecto de los extractos acuosos de *L. camara*, *E.camaldulensis* y *E. africanus* sobre la biomasa de arvenses en ensayo de campo.

Tratamiento	Peso plantas extraídas (g ± e.s.)	
	Fresco	Seco
Control	250.9 ± 51.5 a	45.9 ± 15.1 a
<i>Lantana camara</i>	253.2 ± 18.0 a	51.6 ± 6.7 a
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	234.5 ± 9.9 a	48.4 ± 3.7 a
<i>Eriocephalus africanus</i>	200.8 ± 56.5 a	33.1 ± 9.8 a



Ensayo de campo trascurridas 13 semanas.

5. DISCUSIÓN

Los aceites esenciales y extractos acuosos de las especies estudiadas han mostrado tener efectos fitotóxicos, inhibiendo la germinación y el crecimiento de plantas arvenses, por lo que podrían ser una alternativa a los herbicidas sintéticos respetuosa con el medio ambiente y la salud de las personas. Otros autores habían demostrado anteriormente las propiedades alelopáticas de aceites esenciales y extractos acuosos de diferentes especies y su potencial para el control de arvenses (Dias *et al.*, 1995; Dudai *et al.*, 1999; De Feo *et al.*, 2002; Angelini *et al.*, 2003; Javaid *et al.*, 2006; Azirak y Karaman, 2008; Shafique *et al.*, 2011).

De los resultados obtenidos, podemos afirmar que la actividad de los aceites y extractos depende de varios factores: uno de ellos es la especie frente a la que actúan (Lee *et al.*, 2002), ya que en algunos casos son selectivos, inhibiendo la germinación de determinadas arvenses, pero sin mostrar efectos o incluso estimulando la germinación de cultivos u otras especies arvenses distintas, como en el caso de los extractos de *Cistus ladanifer* L. y *Lavandula stoechas* L., que inhibieron *in vitro* la germinación de *Phlaris minor* L., la principal arvense en cultivo de trigo en el sur de Portugal, mientras estimularon el crecimiento de este último (Dias *et al.*, 1995). La especie *Alcea pallida* Waldst. & Kit. fue la única que mostró resistencia a los aceites ensayados frente a ella y otras arvenses (Azirak y Karaman, 2008). Otro factor es su composición, y la concentración a la que se aplican sus compuestos, ya que especialmente en el caso de los aceites esenciales, hay algunos muy potentes, que muestran gran actividad inhibitoria frente a todas las especies ensayadas incluso a bajas concentraciones, como en el caso del aceite de *Satureja montana* L., que inhibió la germinación de todos los cultivos (rábano, pimienta y lechuga) y arvenses (*Chenopodium album* L., *Portulaca oleracea* L. y *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. frente a los que se probó (Angelini *et al.*, 2003), y el de los aceites de *Mentha spicata* L., *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart, que inhibieron la germinación de todas las arvenses (*Amaranthus retroflexus* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Oryza sativa* L., *Portulaca oleracea* L., *Setaria verticillata* (L.) Beauv.) y cultivos (tomate y algodón) sobre los que se ensayaron (Argyropoulos *et al.*, 2008). Por último, la diversidad de mecanismos de acción del conjunto de compuestos presentes en los extractos o aceites condiciona la toxicidad sobre una especie determinada, ya que puede que la especie sea sensible o no según su metabolismo, y evita la aparición de resistencias. Los herbicidas sintéticos comerciales, aunque son numerosos, suelen atacar en los mismos puntos a las especies arvenses (Duke *et al.*, 2000b). Se ha observado poco solapamiento entre los lugares moleculares de acción de las fitotoxinas sintéticas y las naturales (Dayan *et al.*, 1999b).

Se han estudiado los cambios fisiológicos y bioquímicos producidos por la actividad alelopática de aceites esenciales (Asplund, 1968; Lorber y Muller, 1976; El-Deek y Dan Hess, 1986; Fischer, 1986 y 1991; Koitabashi *et al.*, 1997). La peroxidación lipídica, ampliamente reconocida como un evento toxicológico primario, es causado por la generación de radicales libres de diversas fuentes, incluyendo los hidroperóxidos orgánicos y reacciones de oxidación-reducción (Scrivanti *et al.*,

2003). Los eventos secundarios, incluyen cambios en la estructura, permeabilidad y fluidez de la membrana, desestabilización lisosomal y estimulación de la apoptosis (Dorman *et al.*, 1995; Sikkema *et al.*, 1995).

Los monoterpenos, que se encuentran formando parte de la composición de numerosos aceites esenciales, son importantes agentes alelopáticos en climas cálidos y secos, donde actúan en la fase de vapor, ya que la alta densidad de vapor de los aceites esenciales penetra en el suelo, afectando adversamente a las plantas que crecen alrededor de la planta que los produce (Kohli y Singh, 1991; Vaughn y Spencer, 1993; Koitabashi *et al.*, 1997).

Aunque ninguna característica estructural concreta de los monoterpenos es un factor crítico en la inhibición de la germinación, algunos de los compuestos más fitotóxicos contienen en su estructura oxígeno (carbonilos, carboxilos o alcoholes), mientras los compuestos menos fitotóxicos son hidrocarbonados (Vaughn y Spencer, 1993; Asplund, 1968). No obstante, las interacciones con monoterpenos hidrocarbonos cíclicos conducen a cambios en la estructura y la función de las membranas, lo que a su vez puede afectar al crecimiento y actividad de las células (Sikkema *et al.*, 1995).

En estudios previos, las plantas expuestas a vapores de monoterpenos han mostrado severos daños internos (Scrivanti *et al.*, 2003). La ausencia de una variedad de orgánulos intactos y la presencia de fragmentos de membrana indican que en el interior de las raíces inhibidas se produce la degradación estructural y la descomposición (Lorber y Muller, 1976). Como los ácidos grasos y otros lípidos son componentes estructurales de la membrana, es razonable suponer que la degradación de las membranas resulta en un aumento de los lípidos libres en el citoplasma de las células afectadas. Estos lípidos pueden ser el objetivo de una acción oxidativa, con lo que se puede establecer una correlación entre la peroxidación lipídica y la inhibición del crecimiento de raíces (Scrivanti *et al.*, 2003).

La mayoría de trabajos que estudian la actividad alelopática de determinadas especies, normalmente se centran en ensayar el poder inhibitorio del aceite esencial (Dudai *et al.*, 1999; Angelini *et al.*, 2003; Scrivanti *et al.*, 2003; Arminante *et al.*, 2006; Azirak y Karaman, 2008; Verdeguer *et al.*, 2009; Rolim de Almeida *et al.*, 2010; Verdeguer *et al.*, 2011) o de los extractos, principalmente acuosos (Dias *et al.*, 1995 y 2004; Fernández *et al.*, 2006; Bagavathy y Xavier, 2007; Naseem *et al.*, 2009), y en menor manera, extractos orgánicos (Yun y Choi, 2003; Pérez-Leal *et al.*, 2005; Azizi y Fuji, 2006), sobre la germinación y el crecimiento de otras especies, pero en comparación con los anteriores, son relativamente pocos los trabajos que contrastan al mismo tiempo la actividad fitotóxica de aceites esenciales y extractos acuosos de la misma planta (Lee *et al.*, 2002; Rosado *et al.*, 2009).

Al comparar la actividad fitotóxica *in vitro* de aceites esenciales y extractos acuosos obtenidos de la misma planta (*L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer* y *A. gallica*) se observa, en general, que los aceites esenciales son más activos, ya que inhiben la germinación y el crecimiento de mayor número de espe-

cies arvenses, y más severamente que los extractos acuosos (Tablas 56 y 57), pero también se observa cierta “complementariedad” entre la actividad del aceite y extracto de *L. camara* y *E. africanus*, en el sentido de que el extracto acuoso se muestra más efectivo en especies donde no lo ha sido el aceite esencial y viceversa.

Sobre tomate, lechuga y melisa, el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. mostró mayor actividad fitotóxica que su extracto acuoso (Rosado *et al.*, 2009), sin embargo extractos acuosos de *T. minuta* mostraron mayor potencial alelopático que sus aceites esenciales (Lee *et al.* 2002). Las diferencias observadas en la actividad de extractos acuosos y aceites esenciales de una misma especie sobre otra son debidas a su diverso contenido en sustancias alelopáticas, y a la distinta naturaleza química de las mismas.

El aceite esencial de *L. camara* controló completamente la germinación de *P. judaica* y redujo la de *A. hybridus* en un 96.6% (Tabla 56). Su extracto acuoso, no mostró efecto sobre *P. judaica*, y reveló menor actividad que el aceite esencial en *A. hybridus*, ya que la máxima inhibición de la germinación conseguida fue del 64.4%. Sin embargo, mientras el aceite esencial no tuvo efecto sobre la germinación de *C. album* ni de *C. canadensis*, su extracto acuoso controló en gran medida la germinación de ambas, inhibiéndola un 96.7 y 100%, respectivamente, mostrando la “complementariedad” a que hacíamos referencia anteriormente. Ni el extracto ni el aceite esencial de *L. camara* manifestaron efecto alguno sobre *P. oleracea*, por lo que no se recomienda *L. camara* para el control de esta arvense. Sobre el crecimiento de las arvenses, de nuevo el aceite esencial de *L. camara* exhibió mayor actividad (Tabla 57), ya que lo controló en todas las especies sobre las que se aplicó, excepto *C. canadensis*, llegando a reducirlo un 91.3% en *A. hybridus*, 46.9% en *P. oleracea*, 47.3% en *C. album*, y 98.9% en *P. judaica*, mientras su extracto acuoso solamente inhibió el de *A. hybridus* y *C. album*, un 41.6%, y 25.9%, respectivamente, sin mostrar efectos sobre las otras arvenses.

La actividad mostrada por el aceite esencial de *E. camaldulensis* fue mucho mayor que la de su extracto acuoso (Tabla 56), ya que controló totalmente la germinación de 4 de las 5 especies sobre las que se ensayó (*A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. canadensis* y *P. judaica*), y disminuyó un 57.1% la de *C. album*, mientras que el extracto inhibió completamente la germinación de 2 de las 5 especies sobre las que se aplicó (*A. hybridus* y *C. canadensis*), redujo un 33.9 y un 30% la de *P. oleracea* y *C. album*, y no tuvo efecto sobre *P. judaica*. Asimismo, el aceite esencial mostró mayores efectos sobre el crecimiento de las plántulas (Tabla 57), reduciéndolo en más del 90% en las especies evaluadas (*C. album* y *C. canadensis*). En las especies restantes la germinación fue completamente inhibida a todas las concentraciones, por lo que no se valoraron los efectos sobre el crecimiento. Su extracto consiguió reducciones del 63.6, 33.9 y 46.9% en *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. album*, no mostrando efecto sobre *P. judaica*. Extractos acuosos de *E. camaldulensis* inhibieron la germinación *in vitro* y redujeron el peso fresco y seco de *Convolvulus arvensis* L., *Hordeum vulgare* L., *Sisymbrium irio* L., *Carthamus oxycantha* M.B., *Avena fatua* L.) y *Chenopodium album* L. (Khan *et al.*, 2008).

Tabla 56. Máximo efecto inhibitorio sobre la germinación de arvenses producido por los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados.

Tratamiento	Inhibición de la germinación (%)				
	<i>A. hybridus</i>	<i>P. oleracea</i>	<i>C. album</i>	<i>C. canadensis</i>	<i>P. judaica</i>
<i>L. camara</i> (a)	96.6	n.s.	n.s.	n.s.	100
<i>L. camara</i> (e)	64.4	n.s.	96.7	100	n.s.
<i>E. camaldulensis</i> Val. (a)	100	100	57.1	100	100
<i>E. camaldulensis</i> Val. (e)	100	47.3	30	100	n.s.
<i>E. camaldulensis</i> Sic. (a)		100		100	
<i>E. africanus</i> (a)	100	24	e.e.	98.7	100
<i>E. africanus</i> (e)	100	67.6	53.3	100	85.5
<i>C. ladanifer</i> (a)	100	58.6	n.s.	99	100
<i>C. ladanifer</i> (e)	21.1	n.s.	n.s.	97.2	36.4
<i>A. gallica</i> (a)	100	57.6	n.s.	100	100
<i>A. gallica</i> (e)	63.9	n.s.	n.s.	100	n.s.
<i>A. annua</i> (a)		n.s.		96.3	
<i>L. angustifolia</i> (a)		19.3		100	
<i>R. officinalis</i> (a)		13.6		97.9	
<i>T. capitatus</i> (a)		100		100	
<i>T. lemmonii</i> (a)		95.7		97.7	
<i>P. odoratissimum</i> (a)		96.6		100	
<i>T. vulgaris</i> (a)		98.9		100	
<i>O. vulgare</i> (a)		100		100	

a=aceite esencial, e=extracto acuoso, n.s.=efecto no significativo, e.e.=efecto estimuladorio

Tabla 57. Máximo efecto inhibitorio sobre el crecimiento de arvenses producido por los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados.

Tratamiento	Inhibición del crecimiento (%)				
	<i>A. hybridus</i>	<i>P. oleracea</i>	<i>C. album</i>	<i>C. canadensis</i>	<i>P. judaica</i>
<i>L. camara</i> (a)	91.3	46.9	47.3	n.s.	98.9
<i>L. camara</i> (e)	41.6	n.s.	25.9	n.s.	n.s.
<i>E. camaldulensis</i> Val. (a)	-	-	92	91.6	-
<i>E. camaldulensis</i> Val. (e)	63.6	33.9	46	-	n.s.
<i>E. camaldulensis</i> Sic. (a)		90.9		94.6	
<i>E. africanus</i> (a)	98.9	78.3	52.5	91.6	-
<i>E. africanus</i> (e)	46.5	n.s.	50	92.7	66.8
<i>C. ladanifer</i> (a)	-	89.1	86.3	98.5	97.7
<i>C. ladanifer</i> (e)	25.6	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<i>A. gallica</i> (a)	-	92.2	46.6	95.6	-
<i>A. gallica</i> (e)	n.s.	e.e.	n.s.	78.7	n.s.
<i>A. annua</i> (a)		n.s.		90.6	
<i>L. angustifolia</i> (a)		76.1		53.8	
<i>R. officinalis</i> (a)		67.7		98.5	
<i>T. capitatus</i> (a)		86.2		-	
<i>T. lemmonii</i> (a)		85.9		94.9	
<i>P. odoratissimum</i> (a)		90.6		63.2	
<i>T. vulgaris</i> (a)		98.8		80.1	
<i>O. vulgare</i> (a)		77.6		85.6	

a=aceite esencial; e=extracto acuoso; n.s.=efecto no significativo; e.e.=efecto estimuladorio; -=germinación 0 a todas las concentraciones ensayadas.

Si comparamos los resultados obtenidos por el aceite esencial y el extracto acuoso de *E. africanus*, nuevamente el aceite mostró mayor actividad (Tabla 56), ya que consiguió inhibir totalmente la germinación de *A. hybridus* y *P. judaica*, y redujo un 98.7 y 24% la de *C. canadensis* y *P. oleracea*, respectivamente. Sin embargo, tuvo un efecto estimulador sobre la germinación de *C. album*, revelándose de nuevo en esta especie el efecto “complementario” del extracto acuoso, al inhibir la germinación de *C. album* hasta en un 53.3% y la de *P. oleracea* en un 67.6%. Asimismo, el extracto controló completamente la germinación de *A. hybridus* y *C. canadensis*, y redujo un 85.5% la de *P. judaica*. El aceite esencial de *E. africanus* redujo el crecimiento de todas las arvenses sobre las que se ensayó (Tabla 57), un 98.9% en *A. hybridus*, un 78.3% en *P. oleracea*, un 52.5% en *C. album* y un 91.6% en *C. canadensis*, mientras que el extracto acuoso consiguió inhibir el crecimiento de *A. hybridus*, *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica* en un 46.5, 50.0, 92.7 y 66.8%, respectivamente, sin embargo no tuvo efecto sobre el de *P. oleracea*.

El aceite esencial de *C. ladanifer* inhibió completamente la germinación de *A. hybridus* y *P. judaica*, y redujo la de *C. canadensis* y *P. oleracea* un 98.9 y 58.6% respectivamente, sin mostrar efectos sobre la de *C. album* (Tabla 56), mientras que su extracto acuoso no llegó a inhibir totalmente la germinación de ninguna arvense, manifestando un efecto inhibitorio menor que el aceite esencial, ya que disminuyó la germinación de *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica* en un 21.1, 97.2 y 36.4%, respectivamente, sin mostrar efectos sobre la de *P. oleracea* y *C. album*. El aceite esencial redujo el crecimiento de todas las arvenses evaluadas (Tabla 57), un 98.5% en *C. canadensis*, un 97.7% en *P. judaica*, 89.1% en *P. oleracea* y 86.3% en *C. album*. El extracto de nuevo mostró menor actividad, ya que solamente inhibió el crecimiento de *A. hybridus*, en un 25.6%, no mostrando efectos sobre el crecimiento de *C. album*, *C. canadensis* y *P. judaica*, y estimulando el crecimiento de *P. oleracea*, a las concentraciones menores aplicadas.

Los efectos fitotóxicos del aceite esencial de *A. gallica* fueron mucho mayores que los de su extracto acuoso (Tabla 56), ya que el aceite controló totalmente la germinación de *A. hybridus*, *C. canadensis* y *P. judaica* y redujo la de *P. oleracea* un 57.6%, no mostrando efectos significativos sobre *C. album*, mientras que el extracto sólo fue activo frente a *C. canadensis*, consiguiendo inhibir completamente su germinación, y *A. hybridus*, reduciéndola un 63.9%. Asimismo, el aceite exhibió mayor actividad frente al crecimiento de plántulas (Tabla 57), reduciendo el desarrollo de *C. canadensis*, *P. oleracea* y *C. album* en un 95.6, 92.2 y 46.6 % respectivamente, mientras que el extracto solamente controló el crecimiento de *C. canadensis*, disminuyéndolo un 78.7%, sin mostrar efectos sobre *A. hybridus*, *C. album* y *P. judaica*, y manifestando un efecto estimulador sobre el crecimiento de *P. oleracea*.

Todos los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados, han mostrado efectos fitotóxicos *in vitro* sobre alguna de las especies arvenses sobre las que se han aplicado (Tablas 56 y 57), siendo en estos casos la actividad dependiente de la concentración, o no constatándose diferencias significativas entre concentraciones.

Cabe destacar que los únicos efectos estimulatorios producidos por aceites esenciales se han dado sobre la germinación de *C. album* (Tabla 56). Las dos concentraciones menores del aceite esencial de *E. camaldulensis* y todas las del aceite de *E. africanus* estimularon la germinación de esta arvense. Observadas al microscopio, las semillas de *C. album* presentaban una especie de cubierta, que podría impedir su germinación (Bouwmeester y Karssen, 1993). El efecto estimulatorio de ambos aceites podría explicarse porque contribuirían a la rotura de esta cubierta, estimulando de este modo la germinación de la arvense. En concreto, en el caso de *E. camaldulensis* se observa un claro efecto dosis-dependiente, ya que las dos concentraciones menores del aceite estimularon la germinación, la tercera igualó los resultados con el control, y la dosis máxima resultó tóxica, inhibiendo la germinación un 57.1%.

Asimismo, únicamente los extractos acuosos de *C. ladanifer*, a las concentraciones de 10 y 30% (Tabla 44) y *A. gallica*, a todas las concentraciones (Tabla 46) mostraron efectos estimulatorios, sobre el crecimiento de *P. oleracea* (Tabla 57). En diferentes estudios se ha observado que aleloquímicos que inhibían el crecimiento de especies a ciertas concentraciones, pueden estimularlo a concentraciones menores (Narwal, 1994). Los aleloquímicos que estimulan la germinación y el crecimiento de otras plantas constituyen una importante área de estudio (Rice, 1986). Los efectos alelopáticos estimulatorios se pueden emplear para el desarrollo de promotores del crecimiento naturales (Oudhia *et al.*, 1998).

Merece un especial comentario la alta germinación registrada por las semillas de *C. canadensis* tratadas con extracto de *E. africanus* a la concentración máxima, 100%, que fue igual al control, mientras las dosis menores del mismo extracto inhibieron casi completamente la germinación de esta arvense (Tabla 41). Es necesario profundizar el estudio de estos efectos, con repeticiones empleando las mismas y nuevas dosis intermedias entre 50 y 100%.

Al comparar la fitotoxicidad en invernadero de los aceites esenciales (*E. camaldulensis* y *E. africanus*) y extractos acuosos ensayados (*L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus* y *C. ladanifer*), no se repitió la gran actividad mostrada *in vitro* por los aceites, ya que no manifestaron efecto alguno en comparación con el control. Los extractos acuosos exhibieron diferentes efectos: *E. africanus* y *E. camaldulensis* fueron los más activos, controlando el desarrollo de arvenses durante 6 semanas y consiguiendo reducciones en el número de arvenses del 52.5 y 38.4%, con respecto al control, mientras que el efecto de *L. camara* se prolongó 5 semanas, con una inhibición máxima del desarrollo de arvenses del 21.3% y *C. ladanifer* sólo mostró diferencias significativas con el control la primera semana.

La pérdida de efectividad en invernadero de los aceites esenciales se debió a la rápida volatilización de los compuestos activos, por lo que se deben desarrollar fórmulas alternativas de aplicación de los mismos, como la microencapsulación, que aumentaría su eficacia, al ralentizar su degradación al ambiente, y además simplificaría su manejo (Dayan *et al.*, 2009). Recientemente, se realizaron ensayos *in*

vitro con aceites esenciales de *Melissa officinalis* L., *Lavandula angustifolia* Miller, *Salvia officinalis* L. y *Thymus vulgaris* L. microencapsulados, comparando su actividad con la del aceite esencial puro frente a la germinación de *Raphanus sativus* L., *Lepidium sativum* L. y *Lactuca sativa* L. La microencapsulación modificó sensiblemente la actividad inhibitoria de los aceites ensayados, disminuyéndola. Solamente el aceite esencial de *T. vulgaris* microencapsulado mostró actividad comparable al aceite puro frente a *Lepidium sativum* L. y *Lactuca sativa* L. La pérdida de actividad de los aceites esenciales podría ser debida a cambios en su composición debidos al proceso de microencapsulación, que debe ser estudiado en mayor profundidad (Scarfato *et al.*, 2007). También se podrían emplear formulaciones con emulsionantes y mojantes que retengan los compuestos volátiles de los aceites esenciales.

En los ensayos de invernadero, se realizó solamente una aplicación de los extractos acuosos y aceites esenciales. Se debe estudiar más a fondo la duración y reversibilidad de los efectos fitotóxicos producidos tanto por los extractos acuosos, como por los aceites esenciales, para optimizar la aplicación de los mismos. En la prueba preliminar llevada a cabo para estudiar la reversibilidad de los efectos producidos por aceites esenciales de *E. camaldulensis* de Sicilia, *T. capitatus*, *P. odoratissimum*, *O. vulgare*, carvacrol y eugenol *in vitro*, se observó que cuanto a mayores dosis se habían sometido las semillas, más irreversibles eran los efectos fitotóxicos, no recuperando su capacidad de germinación.

La actividad fitotóxica exhibida por los extractos acuosos de *E. africanus* y *E. camaldulensis* en invernadero se mantuvo en campo, ya que ambos mostraron diferencias con el control durante 16 semanas, consiguiendo reducciones máximas en el número de arvenses desarrolladas del 68.9 y 39.6% con respecto al control, en la semana 13. El extracto de *L. camara*, que había mostrado efectos fitotóxicos sobre distintas arvenses *in vitro* y en invernadero, aunque no tan potentes como los extractos anteriores, estimuló el desarrollo de arvenses en campo. La pérdida de efectividad podría deberse a que las especies arvenses desarrolladas en campo no fueron sensibles a este extracto. Se han descrito efectos alelopáticos negativos (estimulatorios) de *L. camara* sobre algunas variedades de arroz (Oudhia y Tripathi, 2000).

Uno de los inconvenientes del manejo de extractos acuosos es su posible degradación con el tiempo, lo que no permite su conservación a largo plazo, salvo en condiciones de congelación. Es necesario un estudio profundo de los extractos de *E. africanus* y *E. camaldulensis*, para determinar su composición química y establecer formulados estables de los mismos, ya sean líquidos o en polvo deshidratado.

De todos los aceites esenciales ensayados, el más activo fue *E. camaldulensis* de Valencia, ya que controló totalmente la germinación de 4 de las 5 especies sobre las que actuó, prácticamente a todas las concentraciones aplicadas (Tablas 19 y 56). Los aceites de *T. capitatus*, *O. vulgare* y *E. camaldulensis* de Sparacia (Sicilia),

también mostraron gran actividad fitotóxica, llegando a inhibir completamente la germinación de las dos especies frente a las que se probaron (Tabla 56), aunque de ellos *T. capitatus* mostró mayores efectos a las concentraciones más bajas (Tablas 20, 32 y 36). Otros aceites que impidieron completamente la germinación de alguna de las arvenses sobre las que actuaron fueron *A. gallica* (bloqueó totalmente la germinación de 3 de las 5 arvenses sobre las que se ensayó), *E. africanus* y *C. ladanifer* (ambos inhibieron totalmente la germinación de 2 de las 5 especies sobre las que se aplicaron) (Tabla 56). *T. vulgaris*, *P. odoratissimum* y *L. angustifolia* controlaron totalmente la germinación de *C. canadensis*, mostrando además los dos primeros gran actividad frente a *P. oleracea*, inhibiendo su germinación en más del 95% (Tabla 56). *L. camara* inhibió completamente la germinación de *P. judaica*, mostrando gran efecto también sobre la germinación de *A. hybridus* (96.6% de inhibición), pero siendo inactiva sobre las otras arvenses ensayadas (Tabla 56). Los restantes aceites esenciales (*R. officinalis* y *T. lemmonii*) mostraron efectos fitotóxicos sobre las arvenses ensayadas (*C. canadensis* y *P. oleracea*) sin llegar a bloquear su germinación totalmente, aunque *T. lemmonii* inhibió la germinación de ambas en más del 95% (Tabla 56). El aceite esencial de *A. annua* fue el menos activo de todos, ya que sólo redujo la germinación de *C. canadensis*, a la concentración mayor aplicada (Tabla 56).

La distinta actividad de los aceites esenciales está relacionada con las diferencias en su composición química. Algunos autores han afirmado que aceites ricos en compuestos oxigenados son más activos que los que tienen un alto contenido de compuestos hidrocarbonados (Scrivanti *et al.*, 2003; López *et al.*, 2009). Sin embargo los aceites esenciales ensayados no han mostrado mayor actividad a mayor contenido en compuestos oxigenados, por lo que la compleja mezcla de compuestos presentes en cada aceite esencial condiciona su actividad. La bioactividad de los aceites esenciales, normalmente atribuida a los compuestos mayoritarios, también puede ser debida a los efectos combinados de diversos componentes minoritarios o a los efectos sinérgicos de algunos compuestos (Barney *et al.*, 2005; Koroch *et al.*, 2007).

Los aceites esenciales estudiados presentaron diferencias en el contenido de compuestos monoterpénicos y sesquiterpénicos, así como en las fracciones hidrocarbonadas y oxigenadas de ambos grupos de compuestos (Tabla 58).

Diversos autores han sugerido que los compuestos monoterpénicos son los responsables de la inhibición de la germinación, constatando una correlación positiva entre el contenido en monoterpenos y la actividad del aceite esencial (Dudai *et al.*, 2004; Arminante *et al.*, 2006). De los aceites ensayados, *E. camaldulensis* de Valencia fue el más activo y el más rico en compuestos sesquiterpénicos oxigenados (Tabla 58). Los aceites esenciales de *E. camaldulensis* de Sicilia, *E. africanus* y *C. ladanifer*, con contenidos en sesquiterpenos oxigenados sobrepasando el 20%, revelaron una actividad mayor que algunos aceites esenciales con un contenido en monoterpenos más elevado, como *A. annua* y *R. officinalis*. Sin embargo, el aceite esencial de *L. camara*, que no presentó monoterpenos ni sesquiterpenos oxigena-

dos, no mostró actividad sobre las especies en que fueron activos los aceites esenciales ricos en monoterpenos (*P. oleracea* y *C. canadensis*). El potencial fitotóxico de los sesquiterpenos oxigenados debe ser estudiado en mayor profundidad para aclarar su papel en la actividad de los aceites esenciales.

Tabla 58. Contenido en monoterpenos y sesquiterpenos hidrocarbonados y oxigenados de los aceites esenciales ensayados.

Aceite esencial	M.H. (%)	M.O. (%)	S.H. (%)	S.O. (%)	T.H. (%)	T.O. (%)
<i>L. camara</i>	-	-	88.96	6.21	88.96	6.21
<i>E. camaldulensis</i> (Valencia)	26.38	19.86	0.89	48.27	27.27	68.13
<i>E. camaldulensis</i> (Sicilia)	30.54	35.38	1.78	27.70	32.32	63.08
<i>E. africanus</i>	7.09	64.17	3.64	21.26	10.73	85.43
<i>C. ladanifer</i>	13.97	49.31	2.37	22.42	16.34	71.73
<i>A. gallica</i>	3.77	79.64	4.51	0.89	8.28	80.53
<i>A. annua</i>	2.11	89.63	2.88	-	4.99	89.63
<i>L. angustifolia</i>	3.24	89.90	1.76	1.27	5.00	91.17
<i>R. officinalis</i>	19.71	71.41	7.42	0.86	27.13	72.27
<i>T. capitatus</i>	10.42	78.94	4.74	1.32	15.16	80.26
<i>T. lemmonii</i>	4.24	92.75	0.73	t	4.97	92.75
<i>P. odoratissimum</i>	2.05	75.05	t	1.52	2.05	76.57
<i>T. vulgaris</i>	40.77	56.06	2.48	0.24	43.25	56.30
<i>O. vulgare</i>	48.65	50.54	-	-	48.65	50.54

M.H.=monoterpenos hidrocarbonados, M.O.=monoterpenos oxigenados, S.H.= sesquiterpenos hidrocarbonados, S.O.=sesquiterpenos oxigenados, T.H.=total compuestos hidrocarbonados, T.O.=total compuestos oxigenados.

Aceites esenciales de diferentes especies de *Eucalyptus* han mostrado fuertes efectos inhibitorios sobre la germinación de arvenses y cultivos. La germinación *in vitro* de *Amaranthus retroflexus* L. y *P. oleracea* fue completamente inhibida por el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. a concentraciones iguales o superiores al 0.7%. El aceite esencial de *Eucalyptus citriodora* Hook. controló la germinación de *Amaranthus viridis* L. y *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., pero también causó daños en trigo, maíz, rábano y arroz (Azizi y Fuji, 2006; Batish *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010).

El aceite esencial de *E. camaldulensis* de Sparacia (Sicilia) mostró una actividad mucho menor que el de Valencia, pese a tener un mayor contenido en monoterpenos oxigenados: 35.38% frente a 19.86% (Tabla 58). No obstante, en el aceite de Valencia la fracción de los sesquiterpenos oxigenados fue cuantitativamente muy importante (48.27% frente al 27.70% del aceite de Sicilia), principalmente debido a que el compuesto mayoritario, el espatulenol en ambos aceites, se encontró presente en mayores cantidades en el aceite de Valencia (41.46% frente a 26.40%), por lo que el contenido total en compuestos oxigenados fue algo mayor en este último (68.13% frente a 63.08%). Los sesquiterpenos oxigenados, en particular el espatulenol, pueden haber desempeñado un papel muy importante en la

actividad de este aceite esencial. Se ha verificado la actividad citotóxica del espatulenol (Pacciaroni *et al.*, 2000). Otros aceites esenciales conteniendo espatulenol como compuesto mayoritario han mostrado actividad fitotóxica y antimicrobiana (Kobaisy *et al.*, 2002; Čavar *et al.*, 2008). Sería necesario realizar otros ensayos frente a las mismas arvenses con espatulenol patrón para determinar sus propiedades fitotóxicas.

El mecanismo de bioactividad de los aceites de *Eucalyptus* en las plantas reduce la supervivencia de las células y el contenido en clorofila, ARN y carbohidratos, tanto solubles en agua como en ácidos (Kohli *et al.*, 1988). La presencia de diferentes concentraciones de aceite esencial de *E. camaldulensis* disminuyó el índice mitótico en el meristemo apical de *Allium cepa* L., afectó la reacción de Hill en los cloroplastos aislados de *Spinacia oleracea* L. y redujo la actividad peroxidasa en *Lepidium sativum* L., *Echinochloa crus-galli*, *Avena fatua* L., *Rumex acetosella* L., *Zea mays* L. y *Lycopersicon esculentum* Mill. (Moradshahi *et al.*, 2003).

Aunque el aceite esencial de *E. camaldulensis* y otras especies de *Eucalyptus* muestran alto potencial herbicida, existen algunos aspectos en los que se debe profundizar antes de lograr su comercialización como herbicida: los cambios en el rendimiento y composición del aceite esencial a lo largo del año, con los diferentes climas, dentro de la misma especie, y con la edad de la planta (Batish *et al.*, 2006b), la volatilidad del aceite y sus componentes, su lipofilia, las dificultades de absorción por la planta, la efectividad en condiciones de campo, y su fitotoxicidad frente a otras plantas no arvenses. No obstante, es una opción viable para sustituir a los herbicidas sintéticos principalmente en agricultura orgánica o ecológica (Batish *et al.*, 2008).

Dos de los aceites esenciales que mostraron mayor actividad fitotóxica, *T. capitatus* y *O. vulgare*, presentaron el mismo componente mayoritario, carvacrol, compuesto que aplicado aislado inhibió completamente la germinación de las arvenses frente a las que se ensayó, a todas las concentraciones probadas (las mismas a las que se ensayaron ambos aceites). El aceite esencial de *T. capitatus* exhibió mayor actividad que el de *O. vulgare*, mostrando efectos fitotóxicos a concentraciones más bajas que este último. La mayor actividad del aceite de *T. capitatus* está relacionada con su mayor contenido en carvacrol, 77.02%, frente al 29.16% de *O. vulgare*. Es destacable la presencia de eugenol en el aceite de *T. capitatus* (1.77%), compuesto que aislado también mostró grandes efectos inhibitorios sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*, llegando a inhibir completamente su germinación a las concentraciones más elevadas. Otros aceites esenciales con alto contenido en carvacrol han mostrado gran actividad fitotóxica, como el de *Satureja montana* L. (56.80%), que inhibió completamente la germinación de todas las arvenses (*P. oleracea*, *C. album* y *E. crus-galli*) y cultivos (*Raphanus sativus* L., *Capsicum annuum* L. y *Lactuca sativa* L.) frente a los que se ensayó. El carvacrol, aplicado a la mitad de la concentración del aceite esencial frente a las mismas plantas, inhibió completamente la germinación de todas, excepto la de *R. sativus* (Angelini *et al.*, 2003). Aceites esenciales de *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart y *O. onites* L., con altos

contenidos en carvacrol (66 y 72% respectivamente) mostraron gran actividad fitotóxica, inhibiendo completamente la germinación de todas las arvenses (*A. retroflexus*, *P. oleracea*, *E. crus-galli* y *Setaria verticillata* (L.) Beauv.) y de 2 de los 3 cultivos (arroz y tomate, pero no llegaron a inhibir completamente la germinación de algodón) frente a los que fueron ensayados. Carvacrol puro aplicado frente a las mismas arvenses produjo los mismos efectos (Argyropoulos *et al.*, 2008). Los aceites esenciales con alto contenido en carvacrol, como el de *T. capitatus*, muestran un gran potencial herbicida, aunque son menos selectivos frente a las especies que actúan, pudiendo provocar efectos fitotóxicos no deseados sobre cultivos. En la prueba realizada aplicando los aceites esenciales de *T. capitatus*, *O. vulgare*, *P. odoratissimum*, *L. angustifolia*, *E. camaldulensis* de Sicilia y los compuestos patrón carvacrol y eugenol sobre plántulas de *V. faba* var. *minor*, *T. durum*, *H. vulgare*, *A. sativa*, *C. arietinum*, *V. sativa* y *L. culinaris*, ninguno de los tratamientos mostró efectos fitotóxicos sobre los cultivos. No obstante, dada la bibliografía existente, habría que verificar previamente la inocuidad de aceites esenciales ricos en carvacrol sobre cultivos donde vayan a ser empleados como herbicidas naturales. Se debe verificar el mantenimiento de la actividad fitotóxica de estos aceites en condiciones de invernadero y campo.

Como hemos comentado anteriormente, los aceites esenciales de *A. gallica*, *E. africanus* y *C. ladanifer*, mostraron gran actividad fitotóxica en 3 de las 5 especies sobre las que actuaron: *A. hybridus*, *P. judaica* y *C. canadensis* (Tabla 56), controlando totalmente la germinación de las dos primeras y prácticamente también la de *C. canadensis* (*A. gallica* inhibió completamente su germinación, mientras *E. africanus* y *C. ladanifer* la inhibieron en más del 97%) mientras frente a *P. oleracea*, *C. ladanifer* y *A. gallica* mostraron algo más de actividad que *E. africanus*, ya que redujeron su germinación en más del 57%, mientras este último solamente un 24%. De los 3 aceites, el de *E. africanus* presentó un mayor contenido en compuestos oxigenados, 85.43%, frente a 80.53 y 71.73% de *A. gallica* y *C. ladanifer*, respectivamente (Tabla 58). Los compuestos oxigenados del aceite esencial de *A. gallica* fueron en su mayoría monoterpenos, no llegando al 1% los sesquiterpenos oxigenados, mientras que esta fracción representó más del 20% de la composición de los aceites de *E. africanus* y *C. ladanifer*. Crisantenona (40.03%), filifolona (18.11%) y alcanfor (14.23%) fueron los componentes mayoritarios de *A. gallica*, mientras que *E. africanus* contuvo grandes cantidades de artemisia cetona (56.46%), siendo viridiflorol (14.82%), *trans*-pinocarveol (13.18%) y el monoterpeno hidrocarbonado α -pineno (9.37%) los componentes mayoritarios de *C. ladanifer*. No existen trabajos sobre las propiedades fitotóxicas de crisantenona y filifolona, ni de aceites esenciales que las contengan como componentes mayoritarios, aunque los autores que determinaron la composición del aceite de *Dyssodia acerosa* DC., rico en crisantenona (34.8%), limoneno (14.5%) y alcanfor (12.3%), recomendaron el estudio de sus propiedades alelopáticas (Tellez *et al.*, 1997). El alcanfor ha mostrado efectos fitotóxicos: alcanfor y 1,8-cineol son los principales compuestos responsables de la actividad alelopática de distintas especies de *Salvia* (Muller y Muller, 1964). Alcanfor aislado inhibió la germinación y el crecimiento de plántulas de lechuga

(Vokou *et al.*, 2003) y maíz, induciendo en estas últimas estrés oxidativo (Zunino y Zigdalo, 2004). La actividad del aceite esencial de *A. gallica* podría deberse a su alto contenido en alcanfor, pero debe estudiarse el potencial fitotóxico de crisantemona y filifolona para determinar su influencia en la actividad de este aceite. El alto contenido en artemisia cetona, componente mayoritario de los aceites esenciales de algunas especies de *Artemisia* con propiedades alelopáticas, como *A. annua* (Lydon *et al.*, 1997; Teixeira da Silva, 2004; Morvillo *et al.*, 2011), podría ser responsable de la actividad fitotóxica del aceite esencial de *E. africanus*, no obstante, el potencial alelopático de este compuesto no ha sido evaluado. Además el alto contenido de sesquiterpenos oxigenados podría desempeñar un papel importante en la actividad de este aceite esencial, ya que la artemisia cetona exhibió menor toxicidad que otros monoterpenos como alcanfor y 1,8-cineol (Halligan, 1975). Tanto viridiflorol como α -pineno han demostrado tener actividad fitotóxica, el último causa inhibición del crecimiento y estrés oxidativo en raíces (Kobaisy *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2006). Aunque no existen referencias sobre su actividad fitotóxica, el *trans*-pinocarveol se encuentra en aceites esenciales de plantas con propiedades alelopáticas, como *A. annua* (Juteau *et al.*, 2002) y distintas especies de *Eucalyptus* (Zhang *et al.*, 2010). La presencia de estos tres componentes explicaría la actividad fitotóxica revelada por el aceite esencial de *C. ladanifer*.

Normalmente, la actividad mostrada por un aceite esencial sobre la germinación o el crecimiento de una especie se intenta explicar en función de los efectos individuales de sus componentes principales. No obstante, un aceite esencial es una mezcla compleja de muchos compuestos en diferentes proporciones, y la mayoría de las veces se desconoce cómo interactúan (Vokou *et al.*, 2003). Además, existe considerable variabilidad en los aceites esenciales de algunas especies, que puede ser estacional (Vokou y Margaris, 1986b) o intraespecífica, entre diferentes poblaciones de la misma especie (Vokou *et al.*, 1993) o incluso entre individuos de la misma población (Kokkini y Vokou, 1989; Tarayre *et al.*, 1995). Debido a esta variabilidad, el efecto de un aceite esencial no se puede predecir, a menos que se conozca su composición y el tipo de interacciones entre sus constituyentes (Vokou *et al.*, 2003). Esto se debe tener en cuenta al establecer formulaciones con monoterpenos o aceites esenciales para su aplicación en la agricultura. La variabilidad de los aceites esenciales podría ser solucionada mediante selección genética, aunque las condiciones ambientales y ecológicas influyen muchas veces en los compuestos presentes en el aceite esencial elaborado por las distintas especies.

El aceite esencial de *L. camara* mostró actividad en 2 de las 5 especies sobre las que se ensayó (Tabla 56), llegando a inhibir completamente la germinación de *P. judaica* y la de *A. hybridus* en un 96.6%. La menor actividad mostrada por este aceite puede ser debida a la ausencia de monoterpenos (Tabla 58), y al hecho de que la mayor parte de sus componentes fueron sesquiterpenos hidrocarbonados (88.96%), además de a la selectividad de las especies sobre las que actuó. El aceite esencial de *L. camara* ha demostrado tener propiedades autotóxicas (Arora y Kohli, 1993). Los efectos fitotóxicos del aceite esencial de *L. camara* no han sido apenas

estudiados, sin embargo existen numerosos trabajos sobre la actividad alelopática de esta especie, principalmente analizando los efectos que producen sus extractos acuosos, sus restos o su presencia sobre el rendimiento de cultivos o arvenses (Mersie y Singh, 1987; Sahid y Sugau, 1993; Kong *et al.*, 2006).

Los aceites esenciales de *T. lemmonii*, *L. angustifolia*, *A. annua*, *A. gallica*, *T. capitatus*, *P. odoratissimum* y *R. officinalis* se caracterizaron por poseer altos contenidos de monoterpenos oxigenados, superiores al 70% en todos ellos (Tabla 58). Sin embargo, presentaron actividades diversas, debido a su diferente composición química: sus componentes mayoritarios fueron distintos, pudiendo desempeñar los componentes minoritarios presentes en su composición actividades sinérgicas o antagonicas, con lo que se vería aumentada o disminuida su actividad fitotóxica.

Se ha verificado que la actividad fitotóxica del aceite esencial de *T. minuta* es debida en gran parte a la presencia de ocimenona (21.8%) (Scrivanti *et al.*, 2003). El potencial fitotóxico exhibido por el aceite esencial de *T. lemmonii* podría corresponder a su contenido en ocimenona (15%). No obstante, se deben llevar a cabo más ensayos con otras especies para determinar las propiedades fitotóxicas de este aceite esencial, ya que apenas ha sido estudiado.

El aceite esencial de *P. odoratissimum* mostró gran actividad frente a las dos arvenses ensayadas (Tabla 56). Han sido descritas las propiedades fitotóxicas de los 3 componentes mayoritarios presentes en su aceite esencial: citronelol (20.40%) (Singh *et al.*, 2002), compuesto presente también en *Eucalyptus citriodora* (Zhang *et al.*, 2010), especie que ha mostrado actividad herbicida (Singh *et al.*, 2005), α -terpineol (12.60%) y geraniol (12.30%) (Rizvi y Rizvi, 1987; De Martino *et al.*, 2010). Se deben llevar a cabo pruebas de invernadero y campo para estudiar su posible uso como herbicida natural.

Los efectos fitotóxicos mostrados por el aceite esencial de *T. vulgaris* fueron similares a los de *P. odoratissimum* (Tabla 56), presentando mayor actividad a menores concentraciones que este último. Los componentes mayoritarios fueron timol (42.17%) y *p*-cimeno (25.37%). La actividad alelopática y fitotóxica del aceite esencial de *T. vulgaris* sobre diferentes arvenses y cultivos ha sido ampliamente estudiada (Arminante *et al.*, 2006; Grosso *et al.*, 2010; Rolim de Almeida *et al.*, 2010). Aceite esencial de *T. vulgaris* con composición muy similar a la obtenida inhibió completamente la germinación de *Portulaca oleracea* L., *Lactuca sativa* L. y *Capsicum annuum* L. y redujo la germinación de *Chenopodium album* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beav. y *Raphanus sativus* L. Se ensayó timol patrón sobre las mimas arvenses, mostrando una actividad semejante, aunque algo más selectiva, ya que no fue efectivo frente a *R. sativus*, pero inhibió completamente la germinación de *C. album*, manifestando los mismos efectos que el aceite esencial sobre el resto de especies (Angelini *et al.*, 2003). Se deben verificar las propiedades fitotóxicas de este aceite esencial en invernadero y campo para verificar su potencial como herbicida natural.

El aceite esencial de *L. angustifolia* inhibió completamente la germinación de *C. canadensis* pero mostró escaso efecto sobre *P. oleracea* (Tabla 56), siendo activo únicamente a la mayor concentración ensayada, disminuyendo su germinación un 19.3%. Los componentes mayoritarios fueron linalol (33.53%), acetato de linalilo (22.33%), alcanfor (10.96%) y 1,8-cineol (9.16%). Ha sido estudiada la actividad fitotóxica *in vitro* del aceite esencial de *L. angustifolia* sobre algunas especies, inhibiendo totalmente la germinación de *Raphanus sativus* L. y *Lactuca sativa* L., y reduciendo drásticamente la de *Lepidium sativum* L. (Arminante *et al.*, 2006; Rolim de Almeida *et al.*, 2010). Aceites esenciales de *Lavandula* ssp. han mostrado actividad fitotóxica, controlando la germinación y el crecimiento de las arvenses *Amaranthus retroflexus* L., *Solanum nigrum* L., *Portulaca oleracea* L., *Chenopodium album* L., *Sinapis arvensis* L., *Lolium* spp. y *Vicia sativa* L. en ensayos *in vitro* y en maceta (Cavalieri y Caporali, 2010). Este aceite esencial muestra mayor selectividad frente a distintas especies que otros aceites estudiados. Se deben realizar ensayos en condiciones de invernadero y campo para verificar su posible uso como herbicida natural.

Los componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial de *R. officinalis* fueron 1,8-cineol (33.65%), alcanfor (18.04%) y borneol (7.72%), todos ellos conocidos por sus propiedades fitotóxicas frente a distintas especies (Koitabashi *et al.*, 1997; Abraham *et al.*, 2000; Vokou *et al.*, 2003; Zunino y Zigdalo, 2004). Este aceite mostró gran actividad sobre *C. canadensis*, inhibiendo su germinación en más de un 95%, sin embargo, frente a *P. oleracea* únicamente fue activo a la máxima concentración ensayada, inhibiendo su germinación un 13.6% (Tabla 56). Los aceites esenciales de 2 ecotipos de *R. officinalis*, A (37.2% α -pineno, 22.6% 1,8-cineol, 4.6% borneol) y B (13.5% α -pineno, 46.8% 1,8-cineol y 12.9% borneol) fueron ensayados frente a 3 arvenses: *Portulaca oleracea* L., *Chenopodium album* L. y *Echinochloa crus-galli* (L.) Beav. y 3 cultivos: *Lactuca sativa* L., *Capsicum annuum* L. *Raphanus sativus* L., mostrando mayor actividad el quimiotipo B frente a todas las especies, inhibiendo totalmente la germinación de las 3 arvenses y de lechuga. Además se ensayaron los compuestos patrón 1,8-cineol y borneol frente a las mismas especies. El 1,8-cineol mostró efectos significativos solamente frente a la germinación de *C. album*, aunque inhibió el crecimiento de plántulas en todas las especies, por lo que la alta actividad mostrada por el aceite de *R. officinalis* quimiotipo A no puede ser explicada únicamente por la presencia de este compuesto. El borneol exhibió la misma actividad que el aceite esencial (Angelini *et al.*, 2003). En nuestros estudios, la actividad del 1,8-cineol patrón frente a las arvenses sobre las que se ensayó el aceite esencial de *R. officinalis* (*P. oleracea* y *C. canadensis*) fue mucho menor que la del aceite, ya que no mostró efectos significativos sobre *P. oleracea*, y redujo la germinación de *C. canadensis* en menor porcentaje. Los compuestos presentes en el aceite esencial de *R. officinalis* interactúan, condicionando su actividad, que no se explica por los efectos mostrados por su componente mayoritario, 1,8-cineol. Este aceite podría utilizarse como herbicida selectivo, dada su diferente actividad según la especie frente a la que actúa. Se deben realizar ensayos de invernadero y campo para estudiar su potencial herbicida en condiciones reales.

Por último, el aceite esencial de *A. annua*, con componentes mayoritarios β -tuyona (59.80%), *cis*-epoxi-ocimeno (20.78%) y α -tuyona (3.25%) fue el menos activo, ya que no mostró efectos significativos frente a *P. oleracea* (Tabla 56) e inhibió la germinación de *C. canadensis* solamente a la concentración mayor ensayada. La actividad de α y β -tuyona patrón se ensayó frente a *Raphanus sativus* y *Lepidium sativum*, no mostrando efectos significativos sobre la germinación ni el crecimiento de estas especies (De Martino *et al.*, 2010). Aunque existen numerosos estudios que confirman la actividad alelopática de *A. annua* (Lydon *et al.*, 1997; Teixeira da Silva, 2004; Morvillo *et al.*, 2011), el aceite esencial obtenido no muestra gran potencial alelopático sobre las especies ensayadas.

Para finalizar, conforme a los resultados obtenidos *in vitro*, se podrían emplear para el control de *A. hybridus*, los aceites esenciales de *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer*, *A. gallica* y *L. camara*, así como los extractos acuosos de *E. camaldulensis* y *E. africanus*. Para combatir *P. oleracea*, muestran gran actividad los aceites esenciales de *E. camaldulensis*, *T. capitatus*, *O. vulgare*, *T. vulgaris*, *P. odoratissimum* y *T. lemmonii*. De los extractos acuosos probados, el que mejor controla esta arvense es *E. africanus*, aunque no es tan efectivo como los aceites esenciales. Los mejores resultados para el control de *C. album* fueron logrados por el extracto acuoso de *L. camara*. El único aceite esencial que mostró efectos inhibitorios sobre la germinación de esta arvense fue el de *E. camaldulensis*, a la concentración más elevada. Para el control de *C. canadensis* se podrían utilizar todos los extractos acuosos y aceites esenciales ensayados, excepto los aceites de *L. camara*, que no mostró efectos significativos sobre esta arvense, y *A. annua*, que exhibió menor actividad. Por último, los aceites esenciales de *L. camara*, *E. camaldulensis*, *E. africanus*, *C. ladanifer* y *A. gallica* muestran potencial fitotóxico elevado para el control de *P. judaica*, mientras que solamente el extracto acuoso de *E. africanus* es recomendable para el control de esta arvense.

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. La actividad fitotóxica *in vitro* de los aceites esenciales y extractos acuosos ensayados depende de su composición, la especie sobre la que actúan y las dosis empleadas.

2. En general, los aceites esenciales revelaron mayor fitotoxicidad *in vitro* que los extractos acuosos de la misma especie, siendo activos frente a mayor número de arvenses y produciendo efectos más severos. Los aceites esenciales de *Eucalyptus camaldulensis*, con espatulenol como componente mayoritario, y *Thymus capitatus*, con gran contenido en carvacrol, fueron los más efectivos.

3. *Amaranthus hybridus*, *Conyza canadensis* y *Parietaria judaica* se mostraron muy sensibles a los aceites esenciales ensayados *in vitro*, *Portulaca oleracea* manifestó una sensibilidad más selectiva y *Chenopodium album* fue la especie más resistente.

4. Se observó un efecto complementario en la actividad fitotóxica *in vitro* de los aceites esenciales y extractos acuosos de *Lantana camara* y *Eriocephalus africanus* frente a algunas especies: el aceite esencial de *Lantana camara* fue activo sobre *Parietaria judaica*, pero no frente a *Chenopodium album* y *Conyza canadensis*, mientras su extracto acuoso fue activo sobre estas últimas y no frente a *Parietaria judaica*. El aceite esencial de *Eriocephalus africanus* mostró baja actividad fitotóxica frente a *Chenopodium album*, y *Portulaca oleracea*, mientras que su extracto mostró gran actividad sobre ellas.

5. *Conyza canadensis* fue la especie más sensible a los extractos acuosos ensayados *in vitro*, seguida de *Amaranthus hybridus*, que se mostró algo selectiva. *Chenopodium album*, *Portulaca oleracea* y *Parietaria judaica* manifestaron mayor resistencia. Los extractos acuosos más efectivos *in vitro* fueron *Eriocephalus africanus* y *Eucalyptus camaldulensis*.

6. En invernadero, los aceites esenciales ensayados no manifestaron ningún efecto. Los compuestos activos se volatizaron rápidamente, sin posibilidad de mostrar su eficacia. Es necesario el desarrollo de nuevas formulaciones para la aplicación de los aceites esenciales que ralenticen su volatilización al ambiente.

7. Los extractos más activos en invernadero, *Eriocephalus africanus* y *Eucalyptus camaldulensis*, con una sola aplicación, manifestaron sus efectos durante seis semanas. En campo, con tres aplicaciones espaciadas quince días estos extractos prolongaron su actividad hasta dieciséis semanas.

CONCLUSIONS

1. The phytotoxic activity of essential oils and aqueous extracts carried out *in vitro* depends on the composition, the doses employed as well as on the plant species against which they are applied.

2. In general, essential oils showed more phytotoxic effects *in vitro* than the aqueous extracts obtained from the same species, being actives against more weeds and causing further severe damages. The essential oils from *Eucalyptus camaldulensis*, with spathulenol as the main compound, and *Thymus capitatus*, which contained great quantities of carvacrol were the most actives.

3. *Amaranthus hybridus*, *Conyza canadensis* and *Parietaria judaica* were very sensitive to essential oils tested *in vitro*, *Portulaca oleracea* manifested a more selective sensitivity and *Chenopodium album* was the most resistant weed.

4. A complementary effect was observed between *in vitro* phytotoxic activity of *Lantana camara* and *Eriocephalus africanus* essential oils and aqueous extracts on some species: *Lantana camara* essential oil was active against *Parietaria judaica* but not against *Chenopodium album* or *Conyza canadensis*. Its aqueous extract was active against these weeds but not against *Parietaria judaica*. *Eriocephalus africanus* showed a lower activity on *Chenopodium album* and *Portulaca oleracea*, however its aqueous extract was very active towards them.

5. *Conyza canadensis* was the most sensitive species to aqueous extracts tested *in vitro*, followed by *Amaranthus hybridus*, which showed some selectivity. *Chenopodium album*, *Portulaca oleracea* and *Parietaria judaica* exhibited more resistance. Aqueous extracts from *Eriocephalus africanus* and *Eucalyptus camaldulensis* were the most active.

6. Under greenhouse conditions, essential oils tested were not effective. The active compounds were rapidly volatilized. Alternative formulations, such as microencapsulation are needed to slow down essential oils volatilization and improve their efficacy.

7. The extracts more active under greenhouse conditions, *Eriocephalus africanus* and *Eucalyptus camaldulensis*, with only one application, were effective for six weeks. Under field conditions, three applications every fifteen days, prolonged their activity until sixteen weeks.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, D., Braguini, W.L., Kelmer-Bracht, A.M., Ishii-Iwamoto, E.L., 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *Journal of Chemical Ecology* 26, 611-624.
- Aburjai, T., Hudiab, M., Cavrini, V., 2005. Chemical composition of the essential oil from different aerial parts of lavender (*Lavandula coronopifolia* Poiert) (Lamiaceae) grown in Jordan. *Journal of Essential Oil Research* 17, 49-51.
- Achhireddy, N.R., Singh, M., Achhireddy, L.L., Nigg, H.N., Nagy, S., 1985. Isolation and partial characterisation of phytotoxic compounds from Lantana (*Lantana camara* L.). *Journal of Chemical Ecology* 11, 979-988.
- Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, fourth ed. Allured Publishing Corporation, Carol-Stream, Illinois, USA.
- Agarwal, V.S., 1997. Drug plants of India, vol. II. Kalyani Publishers, Ludhiana.
- Ahmed, R., Hoque, A.T.M.R., Hossain, M.K., 2008. Allelopathic effects of leaf litters of *Eucalyptus camaldulensis* on some forest and agricultural crops. *Journal of Forestry Research* 19, 19-24.
- Ahmed, R., Uddin, M.B., Hossain, M.K., 2004. Allelopathic effects of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. on agricultural crops. *Bangladesh Journal of Botany* 33, 79-84.
- Ahmed, S.M., Abdelgaleil, S.A.M., 2005. Antifungal activity of extracts and sesquiterpene lactones from *Magnolia grandiflora* L. (Magnoliaceae). *International Journal of Agriculture and Biology* 7, 638-642.
- Ahmed, Z.F., Shoaib, A.M., Wassel, G.M., Sayyad, S.M., 1972. Phytochemical study of *Lantana camara*. *Planta Medica* 21, 282-288.
- Akhtar, Y., Isman, M.B., 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *Journal of Applied Entomology* 128, 32-38.
- Albers, F., Van der Walt, J.J.A., 2007. Geraniaceae, en: Kubitzki, K. (Ed.), The families and genera of vascular plants vol. 9. Springer, Berlin, pp. 157-167.
- Alías Gallego, J.C., 2006. Influencia de los factores climáticos en la síntesis y actividad de compuestos fitotóxicos secretados por *Cistus ladanifer* L. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.
- Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I.B., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 4168-4170.

Al-Mustafa, A.H., Al-Thunibat, O.Y., 2008. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plant used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11, 351-358.

Al-Tarawneh, A.A., 2004. Study on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected patients: copper uptake, hematological findings and effect of some medicinal plants. M.Sc. Thesis, Sudan University for Science and Technology, Sudan.

Altieri, M.A., 1988. Ecological Approaches, en: Altieri, M.A., Liebman, M. (Eds.), *Weed Management in Agroecosystems*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, pp. 1-6.

Alves, T.M.A., Silva, A.F., Brandão, M., Grandi, T.S.M., Smânia, E.F., Smânia Jr, A., Zani, C.L., 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 95, 367-373.

Amabeoku, G.J., Green, I., Eagles, P., Benjeddou, M., 2000. Effects of *Tarhonnatus camphoratus* and *Eriocephalus africanus* on nociception in mice and pyrexia in rats. *Phytomedicine* 7, 517-522.

Ambika, S.R., Poornima, S., Palaniraj, R., Sati, S.C., Narwal, S.S., 2003. Allelopathic plants. 10. *Lantana camara* L. *Allelopathy Journal* 12, 147-161.

Anderson, W.P., 1996. *Weed Science: Principles and Applications*, West Publishing Company, St. Paul, Minnesota.

Andrade, D., Gil, C., Breitenfeld, L., Domingues, F., Duarte, A.P., 2009. Bioactive extracts from *Cistus ladanifer* and *Arbutus unedo* L. *Industrial Crops and Products* 30, 165-167.

Andrade, M.A., Cardoso, M.G., Batista, L.R., Freire, J.M., Nelson, D.L., 2011. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil of *Pelargonium odoratissimum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21, 47-52.

Angelini, L.G., Carpanese, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Macchia, M., Flamini, G., 2003. Essential oils from Mediterranean lamiaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 6158-6164.

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 4364-4370.

Anjum, T., Bajwa, R., 2007. The effect of sunflower leaf extracts on *Chenopodium album* in wheat fields in Pakistan. *Crop Protection* 26, 1390-1394.

Areias, F.M., Valentao, P., Andrade, P.B., Moreira, M.M., Amaral, J., Seabra, R.M., 2000. HPLC/DAD analysis of phenolic compounds from lavender and its

application to quality control. *Journal of Liquid Chromatography and Related Techniques* 23, 2563-2572.

Argandoña, V.H., Luza, J.G., Niemeyer, H.M., Corchera, L.J., 1980. Role of hydroxamic acids in the resistance of cereals to aphids. *Phytochemistry* 19, 1665-1668.

Argyropoulos, E.I., Eleftherohorinos, I.G., Vokou, D., 2008. In vitro evaluation of essential oils from Mediterranean aromatic plants of the Lamiaceae for weed control in tomato and cotton crops. *Allelopathy Journal* 22, 69-78.

Arminante, F., De Falco, E., De Feo, V., De Martino, L., Mancini, E., Quaranta, E., 2006. Allelopathic activity of essential oils from Mediterranean Labiatae. *Acta Horticulturae* 723, 347-352.

Arntzen, C.J., Pfister, K., Steinback, K.E., 1981. The mechanism of chloroplast triazine resistance: alterations in the site of herbicide action, en: LeBaron, H.M., Gressel, J. (Eds.), *Herbicide Resistance in Plants*. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 185-214.

Arora, R.K., Kohli, R.K., 1993. Autotoxic impact of essential oils extracted from *Lantana camara* L. *Biologia Plantarum* 35, 293-297.

Arras, G., Grella, G.E., 1992. Wild thyme, *Thymus capitatus*, essential oil seasonal changes and antimycotic activity. *Journal of Horticultural Science* 67, 197-202.

Asplund, R.O., 1968. Monoterpenes: relationship between structure and inhibition of germination. *Phytochemistry* 7, 1995-1997.

Azirak, S., Karaman, S., 2008. Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B* 58, 88-92.

Azizi, M., Fuji, Y., 2006. Allelopathic effect of some medicinal plant substances on seed germination of *Amaranthus retroflexus* and *Portulaca oleraceae*. *Acta Horticulturae* 699, 61-68.

Bagavathy, S., Xavier, G.S.A., 2007. Effects of aqueous extract of *Eucalyptus globulus* on germination and seedling growth of sorghum. *Allelopathy Journal* 20, 395-402.

Bagchi, G.D., Jain, D.C., Kumar, S., 1997. Arteether: a potent plant growth inhibitor from *Artemisia annua*. *Phytochemistry* 45, 1131-1133.

Bain, L.J., LeBlanc, G.A., 1996. Interaction of structurally diverse pesticides with the human MDR1 gene product P-glycoprotein. *Toxicology and Applied Pharmacology* 141, 288-298.

- Baker, D.R., Fenyes, J.G., Moberg, W.K., Cross, B., 1987. Overview of Agrochemical Development, en: Baker, D.R., Fenyes, J.G., Moberg, W.K., Cross, B. (Eds.), Synthesis and chemistry of agrochemicals, ACS Symposium Series 355, American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 1-8.
- Baker, H.G., 1974. The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5, 1-24.
- Bansal, G.L., 1998. Allelopathic effect of *Lantana camara* on rice and associated weeds under the midhill conditions of Himachal Pradesh, India, en: Olofsdotter, M. (Ed.), Allelopathy in Rice. Proceedings of the Workshop on Allelopathy in Rice, 25-27 Nov. 1996. International Rice Research Institute, Manila, Philippines, pp. 133-138.
- Baranauskiene, R., Venskutonis, P.R., Viskelis, P., Dambrauskiene, E., 2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7751-7758.
- Baranska, M., Schulz, H., Krüger, H., Quilitzsch, R., 2005. Chemotaxonomy of aromatic plants of the genus *Origanum* via vibrational spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, 1241-1247.
- Baratta, M.T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D.M., Ruberto, G., 1998. Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research* 10, 618-627.
- Barinaga, M., 1990. Where have all the froggies gone? *Science* 247, 1033-1034.
- Barnes, J.P., Putnam, A.R., Burke, B.A., 1986. Allelopathic activity of rye (*Secale cereale* L.), en: Putnam, A., Tang, C.S. (Eds.), The Science of Allelopathy. Wiley Interscience, New York, pp. 271-286.
- Barney, J.N., Hay, A.G., Weston, L.A., 2005. Isolation and characterization of allelopathic volatiles from mugwort *Artemisia vulgaris*. *Journal of Chemical Ecology* 31, 247-265.
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., Angioni, A., 2010. Chemical variability, antifungal and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil from Sardinia. *Natural Product Communications* 5, 329-335.
- Barton, A.F.M., 2000. The oil mallee project, a multifaceted industrial ecology case study. *Journal of Industrial Ecology* 3, 161-176.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C., 1977. Role of temperature in the germination ecology of three summer annual weeds. *Oecologia* 30, 377-382.

- Bass, D.A., Clements, A., 1990. Biology and control of *Parietaria judaica* L., an allergenic weed in south-eastern Australia. Proceedings of the 9th Australian weeds conference. Adelaide, South Australia, 6-10 August.
- Bassett, I.J., Crompton, C.W., 1978. The biology of Canadian weeds. 32. *Chenopodium album* L. *Canadian Journal of Plant Science* 58, 1061-1072.
- Bassil, K.L., Vakil, C., Sanborn, M.D., Cole, D.C., Kaur, J.S., Kerr, K.J., 2007. Cancer health effects of pesticides: a systematic review. *Canadian Family Physician* 53, 1704-1711.
- Basu, C.H., Matthew, D., Mueller, T.C., Stewart Jr, C.N., 2004. Weed genomics: new tools to understand weed biology. *Trends in Plant Science* 9, 391-398.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., Kaur, S., 2008. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management* 256, 2166-2174.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., Saxena, D.B., 2001. Allelopathic effects of parthenin - a sesquiterpene lactone, on germination, and early growth of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.). *PGRSA Quarterly* 29, 81-91.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Rana, N., Kohli, R.K., 2006a. Assessment of allelopathic interference of *Chenopodium album* through its leachates, debris extracts, rhizosphere and amended soil. *Archives of Agronomy and Soil Science* 52, 705-715.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Setia, N., Kaur, S., Kohli, R.K., 2006b. Chemical composition and phytotoxicity of volatile essential oils from intact and fallen leaves of *Eucalyptus citriodora*. *Zeitschrift für Naturforschung C* 61, 465-471.
- Batish, D.R., Singh, H.P., Setia, N., Kohli, R.K., Kaur, S., Yadav, S.S., 2007. Alternative control of littleseed canary grass using eucalypt oil. *Agronomy for Sustainable Development* 27, 171-177.
- Bell, E.A., 1980. The possible significance of secondary compounds in plants, en: Bell, E.A., Charlwood, B.V. (Eds.), *Secondary Plant Products*. Springer-Verlag, New York, pp. 11-21.
- Benbrook, C.M., 2001. Do G.M. crops mean less pesticide use? *Pesticide Outlook* 12, 204-207.
- Benner, J.P., 1996. Crop protection agents from higher plants. An overview, en: Copping, L.G. (Ed.), *Crop protection agents from nature: natural products and analogues*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, England, pp. 217-229.
- Bergendorff, O., Sterner, O., 1995. Spasmolytic flavonols from *Artemisia abrotanum*. *Planta Medica* 61, 370-371.

- Berry, C., La Vecchia, C., Nicotera, P., 2010. Paraquat and Parkinson's disease. *Cell Death and Differentiation* 17, 1115-1125.
- Bettini, P., McNally, S., Seignac, M., Darmency, H., Gasquez, J., Dron, M., 1987. Atrazine resistance in *Chenopodium album*. Low and high levels of resistance to the herbicide are related to the same chloroplast PsbA gene mutation. *Plant Physiology* 84, 1442-1446.
- Bicchi, C., Binello, A., Rubiolo, P., 2000. Determination of phenolic diterpene antioxidants in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) with different methods of extraction and analysis. *Phytochemical Analysis* 11, 236-242.
- Bintein, S., Devillers, J., 1996. Evaluating the environmental fate of atrazine in France. *Chemosphere* 32, 2441-2456.
- Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G., Piattelli, M., 1993. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and Fragrance Journal* 8, 331-337.
- Biondi, E., Valentini, G., Bellomaria, B., 2000. Essential oil of some halophyte and subhalophyte taxa *Artemisia* L. from the Central European Mediterranean. *Journal of Essential Oil Research* 12, 365-371.
- Blain, P.G., 1990. Aspects of pesticide toxicology. *Adverse Drug Reactions and Acute Poisoning Reviews* 9, 37-68.
- Blaustein, A.R., Wake, D.B., 1990. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends in Ecology and Evolution* 5, 203-204.
- Blodgett, J.T., Swart, W.J., 2002. Infection, colonization, and disease of *Amaranthus hybridus* leaves by the *Alternaria tenuissima* group. *Plant Disease* 86, 1199-1205.
- Bohlmann, F., Zdero, C., 1972. Polyacetylenverbindungen, 207. Notiz über eine neue Acetylenverbindung aus *Eriocephalus africanus* L. *Chemische Berichte* 105, 1783-1784.
- Bonner, J., 1950. The role of toxic substances in the interaction of higher plants. *The Botanical Review* 16, 51-65.
- Boobis, A.R., Ossendorp, B.C., Banasiak, U., Hamey, P.Y., Sebestyen, I., Moretto, A., 2008. Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. *Toxicology Letters* 180, 137-150.
- Borek, V., Morra, M.J., Brown, P.D., McCaffrey, J.P., 1995. Transformation of the glucosinolate-derived allelochemicals allylisothiocyanate and allylnitrile in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 1935-1940.

- Borjigidai, A., Hikosaka, K., Hirose, T., 2009. Carbon balance in a monospecific stand of an annual herb *Chenopodium album* at an elevated CO₂ concentration. *Plant Ecology* 203, 33-44.
- Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Faleiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry* 105, 146-155.
- Bouverat-Bernier, J.P., 1992. Comparaison varietale de quatre menthes poivrees pour la production d'huile essentielle. *Herba Gallica* 2, 1-15.
- Bouwmeester, H.J., 1990. The effect of environmental conditions on the seasonal dormancy pattern and germination of weed seeds. Ph.D. thesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- Bouwmeester, H.J., Karszen, C.M., 1993. Seasonal periodicity in germination of seeds of *Chenopodium album* L. *Annals of Botany* 72, 463-473.
- Bown, D., 1995. Encyclopedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London, UK.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E., 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 7879-7885.
- Bravo, H.R., Lazo, W., 1993. Antimicrobial activity of cereal hydroxamic acids and related compounds. *Phytochemistry* 33, 569-571.
- Bremer, K., 1994. Asteraceae, Cladistics and Classification. Timber Press, Oregon.
- Bremer, K., Humphries, C.J., 1993. Generic monograph of the Asteraceae-Anthemideae. *Bulletin of the Natural History Museum of London. (Botany Series)* 23, 71-177.
- Brooker, M.I.H., Kleinig, D.A., 2006. Field guide to *Eucalyptus*. vol.1. South-eastern Australia, third ed. Blooming's, Melbourne.
- Brown, P.D., Morra, M.J., 1995. Glucosinolate-containing plant tissues as bioherbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 3070-3074.
- Bruneton, J., 1999. Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants, second ed. Intercept Ltd., London.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., 1994. Aromatherapy-use of fragrances and essential oils as medicaments. *Flavour and Fragrance Journal* 9, 217-222.

- Buhler, D.D., 1992. Population dynamics and control of annual weeds in corn (*Zea mays*) as influenced by tillage systems. *Weed Science* 40, 241-248.
- Bull, D., 1982. A growing problem: pesticides and the third world poor, OXFAM, Oxford.
- Caamal-Maldonado, J.A., Jimenez-Osornio, J.J., Torres-Barragan, A., Anaya, A.L., 2001. The use of allelopathic legume cover and mulch species for weed control in cropping systems. *Agronomy Journal* 93, 27-36.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., Corke, H., 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with cancer. *Life Sciences* 74, 2157-2184.
- Carbonell, E., Xamena, N., Creus, A., Marcos, R., 1995. Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges as biomarkers of exposure to pesticides. *Clinical Chemistry* 41, 1917-1919.
- Carpenter, S.R., Caraco, N.F., Correll, D.L., Howarth, R.W., Sharpley, A.N., Smith, V.H., 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications* 8, 559-568.
- Cavalieri, A., Caporali, F., 2010. Effects of essential oils of cinnamon, lavender and peppermint on germination of Mediterranean weeds. *Allelopathy Journal* 25, 441-452.
- Ćavar, S., Maksimović, M., Šolić, M.E., Jerković-Mujkić, A., Bešta, R., 2008. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry* 111, 648-653.
- Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry* 100, 553-559.
- Cen, Y.P., Bornman, J.F., 1993. The effect of exposure to enhanced UV-B radiation on the penetration of monochromatic and polychromatic UV-B radiation in leaves of *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum* 87, 249-255.
- Chadha, M.L., 2009. Indigenous vegetables of India with a potential for improving livelihoods. The World Vegetable Center. Regional Center for South Asia (RCSA) ICRISAT campus, India.
- Chalchat, J.C., Garry, R.P., Sidibe, L., Harama, M., 2000. Aromatic plants of Mali (V): chemical composition of essential oils of four eucalyptus species implanted in Mali: *Eucalyptus camaldulensis*, *E. citriodora*, *E. torelliana* and *E. tereticornis*. *Journal of Essential Oil Research* 12, 695-701.

- Chalchat, J.C., Kundakovic, T., Gorunovic, M.S., 2001. Essential oil from leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn, Myrtaceae from Jerusalem. *Journal of Essential Oil Research* 13, 105-107.
- Champion, G.T., May, M.J., Bennett, S., Brooks, D.R., Clark, S.J., Daniels, R.E., Firbank, L.G., Haughton, A.J., Hawes, C., Heard, M.S., Perry, J.N., Randle, Z., Rossall, M.J., Rothery, P., Skellern, M.P., Scott, R.J., Squire, G.R., Thomas, M.R., 2003. Crop management and agronomic context of the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Science* 358, 1801-1818.
- Chan, K., Islam, M.W., Kamil, M., Radhakrishnan, R., Zakaria, M.N.M., Habibullah, M., Attas, A., 2000. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (Haw.) Celak. *Journal of Ethnopharmacology* 73, 445-451.
- Chapell, J., Hahlbrock, K., 1984. Transcription of plant defence genes in response to UV light or fungal elicitor. *Nature* 311, 76-78.
- Chapin, G., Wasserstrom, R., 1981. Agricultural production and malaria resurgence in Central America and India. *Nature* 293, 181-185.
- Chauhan, B.S., Johnson, D.E., 2009. Seed germination ecology of *Portulaca oleracea* L.: an important weed of rice and upland crops. *Annals of Applied Biology* 155, 61-69.
- Chaves, N., Escudero, J.C., 1997. Allelopathic effect of *Cistus ladanifer* on seed germination. *Functional Ecology* 11, 432-440.
- Chaves, N., Escudero, J.C., Gutierrez-Merino, C., 1993. Seasonal variation of exudate of *Cistus ladanifer* L. *Journal of Chemical Ecology* 19, 2577-2591.
- Chaves, N., Escudero, J.C., Gutiérrez-Merino, C., 1997. Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudate. *Journal of Chemical Ecology* 23, 579-603.
- Chaves, N., Sosa, T., Alias, J.C., Escudero, J.C., 2001a. Identification and effects of interaction phytotoxic compounds from exudate of *Cistus ladanifer* leaves. *Journal of Chemical Ecology* 27, 611-621.
- Chaves, N., Sosa, T., Alias, J.C., Escudero, J.C., 2003. Germination inhibition of herbs in *Cistus ladanifer* L. soils: possible involvement of allelochemicals. *Allelopathy Journal*, 11, 31-42.
- Chaves, N., Sosa, T., Escudero, J.C., 2001b. Plant growth inhibiting flavonoids in exudate of *Cistus ladanifer* and in associated soils. *Journal of Chemical Ecology* 27, 623-631.

- Chen, C.M., Chen, M., 1976. 6-Methoxybenzoxazolinone and triterpenoids from roots of *Scoparia dulcis*. *Phytochemistry* 15, 1997-1999.
- Chen, P.K., Leather, G.R., 1990. Plant growth regulatory activities of artemisinin and its related compounds. *Journal of Chemical Ecology* 16, 1867-1876.
- Childe, V.G., 1958. The Prehistory of European Society. Penguin Books, London. (La prehistoria de la sociedad europea. Icaria, Barcelona, 1978).
- Chizzola, R., Michitsch, H., Franz, C., 2008. Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6897-6904.
- Chopra, R.N., Chopra, I.C., Verma, B.S., 1969. Supplement to the glossary of Indian medicinal plants. Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi.
- Chopra, R.N., Nayar, S.L., Chopra, I.C., 1956. Glossary of Indian medicinal plants, CSIR, New Delhi.
- Chou, C.H., 1986. The role of allelopathy in subtropical agroecosystems in Taiwan, en: Putnam, A.R., Tang, C.S (Eds.), The Science of Allelopathy. Wiley-Interscience, New York, pp. 57-73.
- Chou, C.H., 1989. The role of allelopathy in phytochemical ecology, en: Chou, C.H., Waller, G.R. (Eds.), Phytochemical Ecology: Allelochemicals, Mycotoxins and Insect Pheromones and Allomones. Institute of Botany, Academia Sinica Monograph Series No. 9, Taipei, Taiwan, pp. 19-38.
- Christoph, F., Kubeczka, K.H., Stahl-Biskup, E., 1999. The composition of commercial manuka oils from New Zealand. *Journal of Essential Oil Research* 11, 705-710.
- Chun, J.C., Han, K.W., Jang, B.C., Shin, H.S., 1988. Determination of phenolic compounds responsible for allelopathy in upland weeds. *Korean Journal of Weed Science* 8, 258-264.
- Clay, D.V., Dixon, F.L., Willoughby, I., 2005. Natural products as herbicides for tree establishment. *Forestry* 78, 1-9.
- Connick, W.J., Bradow, J.M., Legendre, M., 1989. Identification and bioactivity of volatile allelochemicals from amaranth residues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37, 792-796.
- Constance, D.H., 2010. Sustainable agriculture in the United States: a critical examination of a contested process. *Sustainability* 2, 48-72.

- Costa, M.A., Colombo, P., Izzo, V., Kennedy, H., Venturella, S., Cocchiara, R., Mistrello, G., Falagiani, P., Geraci, D., 1994. cDNA cloning, expression and primary structure of Par j I, a major allergen of *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Letters* 341, 182-186.
- Council of Scientific and Industrial Research (CSIR), 1962. Weath of India, vol. VI. Council of Scientific and Industrial Directorate, New Delhi.
- Council of Scientific and Industrial Research (CSIR), 1992. The useful plants of India. Publication and Information Directorate, CSIR, New Delhi.
- Cronquist, A., 1943. The separation of Erigeron from Conyza. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 70, 629-632.
- Czczot, H., Tudek, B., Kuzstelak, J., Szymczyk, T., Dobrowolska, B., Glinkowska, G., 1990. Isolation and studies of the mutagenic activity in the Ames test of flavonoids naturally occurring in medical herbs. *Mutation Research* 240, 209-216.
- D'Antuono, F., Galletti, G.G., Bocchini, P., 2000. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. populations from a North Mediterranean area (Liguria region, Northern Italy). *Annals of Botany* 86, 471-478.
- Da Silva, M.H.L., Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G.B., Luz, A.I.R., Da Silva, J.D., Maia, J.G.S., 1999. The essential oils of *Lantana camara* L. occurring in North Brazil. *Flavour and Fragrance Journal* 14, 208-210.
- Daehler, C.C., 1998. The taxonomic distribution of invasive Angiosperm plants: ecological insights and comparison to agricultural weeds. *Biological Conservation* 84, 167-180.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G., 2000. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2576-2581.
- Dagne, E., Bisrat, D., Alemayehu, M., Worku, T., 2000. Essential oils of twelve *Eucalyptus* species from Ethiopia. *Journal of Essential Oil Research* 12, 467-470.
- Danin, A., Reyes-Betancort, J.A., 2006. The status of *Portulaca oleracea* L. in Tenerife, The Canary Islands. *Lagasalia* 26, 71-81.
- Datta, S., Saxena, D.B., 2001. Pesticidal properties of parthenin (from *Parthenium hysterophorus*) and related compounds. *Pest Management Science* 57, 95-101.
- Davies, J.E., 1982. Epidemiology of pesticides, en: Davies, J.E., Freed, V.H., Whittemore, F.W. (Eds.), An agromedical approach to pesticide management: some health and environmental considerations. Miami, Florida: University of Mi-

ami School of Medicine in cooperation with the Agency for International Development (USAID) and Consortium for International Crop Protection, pp. 50-61.

Dayan, F.E., Cantrell, C.L., Duke, S.O., 2009. Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 17, 4022-4034.

Dayan, F.E., Duke, S.O., Sauldubois, A., Singh, N., Mccurdy, C., Cantrell, C.L., 2007. *p*-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase is a herbicidal target site for B-triketones from *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry* 68, 2004-2014.

Dayan, F., Romagni, J., Tellez, M., Romano, A., Duke, S., 1999a. Managing weeds with natural products-harnessing the power of natural products in weed management. *Pesticide Outlook* 10, 185-188.

Dayan, F.E., Watson, S.B., Galindo, J.C.G., Hernández, A., Dou, J., McChesney, J.D., Duke, S.O., 1999b. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and structural requirements. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 65, 15-24.

De Feo, V., De Martino, L., Quaranta, E., Pizza, C., 2003. Isolation of phytotoxic compounds from Tree-of-Heaven (*Ailanthus altissima* Swingle). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 1177-1180.

De Feo, V., De Simone, F., Senatore, F., 2002. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry* 61, 573-578.

De la Cruz, M., 2009. 1510 Estepas salinas mediterráneas (Limonietalia) (*), en: VV.AA., Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España. Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, Madrid. 78 pp.

De Leo, P., Kongjika, E., Miceli, A., Negro, C., Tommasi, L., 2001. Comparison of essential oil in ecotypes from Albania and South Apulia: *Thymus capitatus*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis*. Proceeding of the Fourth Seminar Italo-Albanian Cooperation for the Enhancement of Plant Biodiversity, 22-23 October.

De Martino, L., Mancini, E., de Almeida, L.F.R., De Feo, V., 2010. The antigerminative activity of twenty-seven monoterpenes. *Molecules* 15, 6630-6637.

De Mastro, G., Fracchiolla, M., Brunetti, G., Verdini, L., 2004. Bioerbicidi: nuove opportunità di valorizzazione delle produzioni officinali. II Convegno Nazionale sulle Piante Mediterranee, Agrigento (Italia), 7-8 Ottobre, p. 155.

De Mastro, G., Fracchiolla, M., Verdini, L., Montemurro, P., 2006. Oregano and its potential use as bioherbicide. *Acta Horticulturae* 723, 335-345.

De Prado, R., De Prado Jr., R., 2003. Control integrado de malas hierbas resistentes a herbicidas. *Vida Rural* 178, 26-29.

- De Prado, R., Domínguez, C., Tena, M., 1988. Characterization of triazine-resistant biotypes of *Amaranthus* spp. found in Spain. Colloque international sur la biologie, l'écologie et la systématique des mauvaises herbes, pp. 247-256.
- Del Moral, R., Muller, C.H., 1969. Fog drip: a mechanism of toxin transport from *Eucalyptus globulus*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 96, 467-475.
- Del Moral, R., Muller, C.H., 1970. The allelopathic effects of *Eucalyptus camaldulensis*. *American Midland Naturalist* 83, 254-282.
- Deena, M.J., Thoppil, J.E., 2000. Antimicrobial activity of the essential oil of *Lantana camara*. *Fitoterapia* 71, 453-455.
- Devine, M.D., Shukla, A., 2000. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection* 19, 881-889.
- Dhanapal, G.N., Struik, P.C., Timmermans, P.C.J.M, ter Borg, S.J., 1998. Post-emergence control of broomrape with natural plant oils. *Journal of Sustainable Agriculture* 11, 5-12.
- Dias, A.S., Dias, L.S., Pereira, I.P., 2004. Activity of water extracts of *Cistus ladanifer* and *Lavandula stoechas* in soil on germination and early growth of wheat and *Phalaris minor*. *Allelopathy Journal* 14, 59-64.
- Dias, L.S., Pereira, I.P., Dias, A.S., 1995. Evaluation of Mediterranean-type vegetation for weedicide activity. *Allelopathy Journal* 2, 197-204.
- Donna, A., Crosignani, P., Robutti, F., Betta, P.G., Bocca, R., Mariani, N., Ferrario, F., Fissi, R., Berrino, F., 1989. Triazine herbicides and ovarian epithelial neoplasms. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health* 15, 47-53.
- Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Noble, R.C., Surai, P., 1995. Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. *Journal of Essential Oil Research* 7, 645-651.
- Douglas, M.H., van Klink, J.W., Smallfield, B.M., Perry, N.B., Anderson, R.E., Johnstone, P., Weavers, R.T., 2004. Essential oils from New Zealand manuka: triketone and other chemotypes of *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry* 65, 1255-1264.
- Dragoeva, A.P., Nanova, Z.D., Kalcheva, V.K., 2008. Allelopathic activity of micropropagated *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* and its effect on mitotic activity. *Allelopathy Journal* 22, 131-142.
- Dudai, N., Ben-Ami, M., Chaimovich, R., Chaimovitsh, D., 2004. Essential oils as allelopathic agents: bioconversion of monoterpenes by germinating wheat seeds. *Acta Horticulturae* 629, 505-508.

- Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A.M., Putievsky, E., Lerner, H.R., 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology* 25, 1079-1089.
- Duke, S.O., Dayan, F.E., Rimando, A.M., Schrader, K.K., Aliotta, G., Oliva, A., Romagni, J.G., 2002. Chemicals from nature for weed management. *Weed Science* 50, 138-151.
- Duke, S.O., Dayan, F.E., Romagni, J.G., Rimando, A.M., 2000a. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. *Weed research* 40, 99-111.
- Duke, S.O., Powles, S. B., 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64, 319-325.
- Duke, S.O., Romagni, J.G., Dayan, F.E., 2000b. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action. *Crop Protection* 19, 583-589.
- Duke, S.O., Vaughn, K.C., Croom Jr., E.M., ElSohly, H.N., 1987. Artemisinin, a constituent of annual wormwood (*Artemisia annua*) is a selective phytotoxin. *Weed Science* 35, 499-505.
- Dunlop, P.J., Bignell, C.M., Hibbert, D.B., 2000. Use of gas chromatograms of essential leaf oils to compare clones of *Eucalyptus camaldulensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 26, 383-391.
- Duro, G., Colombo, P., Costa, M.A., Izzo, V., Porcasi, R., Di Fiore, R., Locorotondo, G., Cocchiara, R., Geraci, D., 1996. cDNA cloning, sequence analysis and allergological characterization of Par j 2.0101, a new major allergen of the *Parietaria judaica* pollen. *FEBS Letters* 399, 295-298.
- Dweck, A.C., 2001. Purslane (*Portulaca oleracea*)-The global panacea. *Personal Care Magazine* 2, 7-15.
http://www.dweckdata.com/Published_papers/Portulaca_oleracea.pdf
- Ebrahimi, S.N., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., Yousefzadi, M., 2008. Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chemistry* 110, 927-931.
- Ecobichon, D.J., 2001. Pesticides use in developing countries. *Toxicology* 160, 27-33.
- Ecobichon, D.J., Davies, J.E., Doull, J., Ehrich, M., Joy, D., McMillan, R., MacPhail, L.W., Reiter, W., Slikker, W., Tilson, H., 1990. Neurotoxic effects of pesticides, en: Baker, R., Wilkinson, C.F. (Eds.), *The effects of pesticides on human health. Advances in Modern Environmental Toxicology*, vol. 18. Princeton Scientific, Princeton, New Jersey, pp. 131-199.

- Eggli, U., Ford-Werntz, D., 2002. Portulacaceae, en: Eggli, U., Ford-Werntz, D. (Eds.), *Illustrated handbook of succulent plants: dicotyledons*. Springer, Berlin, pp. 370-371.
- Ehlers, B.K., Thompson, J., 2004. Do co-occurring plant species adapt to one another? The response of *Bromus erectus* to the presence of different *Thymus vulgaris* chemotypes. *Oecologia* 141, 511-518.
- Einhellig, F.A., 1995. Allelopathy: Current status and future goals, en: Inderjit, Dakshini, K.M.M., Einhellig, F.A. (Eds.), *Allelopathy: Organisms, Processes, and Applications*. American Chemical Society Symposium Series 582, Washington, D.C., pp. 1-25.
- Einhellig, F.A., 2004. Mode of allelochemical action of phenolic compounds, en: Macías, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G.V., Cutler, H.G. (Eds.), *Allelopathy: Chemistry and Mode of Action*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 217-238.
- Einhellig, F.A., Leather, G.R., 1988. Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. *Journal of Chemical Ecology* 14, 1829-1844.
- El-Deek, M.H., Dan Hess, F., 1986. Inhibited mitotic entry is the cause of growth inhibition by cinmethylin. *Weed Science* 34, 684-688.
- Elakovich, S.D., 1988. Terpenoids as models for new agrochemicals, en: Cutler, H.G. (Ed.), *Biologically active natural products-potential use in agriculture*. American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 250-261.
- Elakovich, S.D., Stevens, K.L., 1985. Volatile constituents of *Lippia nodiflora*. *Journal of Natural Products* 48, 504-506.
- Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A., Mount, J.R., 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64, 1019.
- Estaún, V., Savé, R., Biel, C., 1997. AM inoculation as a biological tool to improve plant revegetation of a disturbed soil with *Rosmarinus officinalis* under semi-arid conditions. *Applied Soil Ecology* 6, 223-229.
- Evans, D.A., 1999. How can technology feed the world safely and sustainably?, en: Brooks, G.T., Roberts, T.R. (Eds.), *Pesticide chemistry and bioscience. The food-environment challenge*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K. pp. 3-24.
- Fahey, J.W., Zalcmann, A.T., Talalay, P., 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56, 5-51.

- Falchi Delitala, L., Solinas, V., Gessa, C., 1983. Variazioni stagionali e qualitative di olio essenziale e dei suoi fenoli in *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Lk. ed in *Thymus herba-barona* Loisel. *Informatore Botanico Italiano* 8, 87-96.
- Fan, L., Chen, Y., Yuan, J., Yang, Z., 2010. The effect of *Lantana camara* Linn. invasion on soil chemical and microbiological properties and plant biomass accumulation in southern China. *Geoderma* 154, 370-378.
- Fawcett, R.S., Slife, F.W., 1978. Effects of field applications of nitrate on weed seed germination and dormancy. *Weed Science* 26, 594-596.
- Feng, P.C.C., Tran, M., Chiu, T., Sammons, R.D., Heck, G.R., CaJacob, C.A., 2004. Investigations into glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*): retention, uptake, translocation, and metabolism. *Weed Science* 52, 498-505.
- Fernández, C., Lelong, B., Vila, B., Mévy, J. P., Robles, C., Greff, S., Dupouyet, S., Bousquet-Mélou, A., 2006. Potential allelopathic effect of *Pinus halepensis* in the secondary succession, an experimental approach. *Chemoecology* 16, 97-105.
- Fernández-Arroyo, S., Barrajón-Catalán, E., Micol, V., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2010. High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a *Cistus ladanifer* aqueous extract. *Phytochemical Analysis* 21, 307-313.
- Figuéredo, G., Cabassu, P., Chalchat, J., Pasquier, B., 2006. Studies of Mediterranean oregano populations. VIII - Chemical composition of essential oils of oreganos of various origins. *Flavour and Fragrance Journal* 21, 134-139.
- Firbank, L.G., Forcella, F., 2000. Genetically modified crops and farmland diversity. *Science* 289, 1481-1482.
- Fischer, N.H., 1986. The function of mono and sesquiterpenes as plant germination and growth regulators, en: Putnam, A.R., Tang, C.S. (Eds.), *The Science of Allelopathy*. Wiley, New York, pp. 203-218.
- Fischer, N.H., 1991. Plant terpenoids as allelopathic agents, en: Harborne, J.B., Tomas-Barberan, T.A. (Eds.), *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. Clarendon Press, Oxford, pp. 377-398.
- Fischer, N., Nitz, S., Drawert, F., 1988. Original composition of marjoram flavor and its changes during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36, 996-1003.
- Flora iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares, 1990. Vol. II. Platanaceae-Plumbaginaceae (partim). Real Jardín Botánico, C.S.I.C, Madrid, pp. 465-469, 562.

- Flora iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares, 2005. Vol. III. Plumbaginaceae (partim)-Capparaceae, 2ª ed. Real Jardín Botánico, C.S.I.C., Madrid, pp. 262 y 269.
- Food Quality Protection Act (FQPA), 1996. US Public Law 104-170, Aug. 3, 1996, 110 STAT. 1489-1538.
- Ford, S.A., Baldo, B.A., Geraci, D., Bass, D., 1986. Identification of *Parietaria judaica* pollen allergens. *International Archives of Allergy and Applied Immunology* 79, 120-126.
- Fornaciari, M., Bricchi, E., Greco, F., Fascini, D., Giannoni, C., Frenguelli, G., Romano, B., 1992. Daily variations of Urticaceae pollen count and influence of meteorological parameters in East Perugia during 1989. *Aerobiologia* 8, 407-413.
- Fotiou, C., Damialis, A., Krigas, N., Halley, J.M., Vokou, D., 2011. *Parietaria judaica* flowering phenology, pollen production, viability and atmospheric circulation, and expansive ability in the urban environment: impacts of environmental factors. *International Journal of Biometeorology* 55, 35-50.
- Fournier, P., 1999. Plantes Medicinales. CME, Luxembourg.
- Fraga, B.M., 2005. Natural sesquiterpenoids. *Natural Product Reports* 22, 465-486.
- Frankton, C., Mulligan, G.A., 1987. Weeds of Canada (revised). Publication 948. Ministry of Supply and Services Canada. NC Press Limited, Toronto, ON. 217 pp.
- Franz, C., Novak, J., 1997. Breeding of *Origanum* species, en: Padulosi, S. (Ed.), Oregano. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 14. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, 8-12 May 1996, CIHEAM, Valenzano (Bari), Italy. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, pp. 49-56.
- Freed, V.H., 1982. What are pesticides and how they are used?, en: Davies, J.E., Freed, V.H., Whittemore, F.W. (Eds.), An agromedical approach to pesticide management: some health and environmental considerations. University of Miami School of Medicine in cooperation with the Agency for International Development (USAID) and Consortium for International Crop Protection, Miami, Florida, pp. 17-49.
- Freed, V.H., Davies, J.E., Smith, R.F., Whittemore, F.W., 1982. The Agromedical Approach-General Considerations, en: Davies, J.E., Freed, V.H., Whittemore, F.W. (Eds.), An agromedical approach to pesticide management: some health and environmental considerations. University of Miami School of Medicine in cooperation

with the Agency for International Development (USAID) and Consortium for International Crop Protection, Miami, Florida, pp. 3-16.

Friedman, J., Waller, G.R., 1983. Seeds as allelopathic agents. *Journal of Chemical Ecology* 9, 1107-1117.

Fujii, Y., Parvez, S.S., Parvez, M.M., Ohmae, Y., Iida, O., 2003. Screening of 239 medicinal plant species for allelopathic activity using the sandwich method. *Weed Biology and Management* 3, 233-241.

Galan, C., Alcazar, P., Carinanos, P., Garcia, H., Dominguez-Vilches, E., 2000. Meteorological factors affecting daily Urticaceae pollen counts in Southwest Spain. *International Journal of Biometeorology* 43, 191-195.

Galinato, M.I., Moody, K., Pigginn, C.M., 1999. Upland Rice Weeds of South and Southeast Asia. International Rice Research Institute, Makati City, Philippines.

Galindo, J.C.G., Macías, F.A., de Prado, R., 2000. Selected sesquiterpene lactones inhibit the growth of two problematic atrazine-resistant weeds. Book of Abstracts, III International Weed Science Congress, Foz do Iguassu, Brazil, 67-11 June 2000. International Weed Science Society, Corvallis, OR, p. 103.

García-Martín, D., García-Vallejo, C., 1969. Contribution a la connaissance de l'huile essentielle de *Cistus ladanifer* var. *maculatus* Dun (Ciste commun-jard d'Espagne). *Parfumerie Cosmetique et Savon* 12, 283-290.

Gentle, C.B., Duggin, J.A., 1997. Allelopathy as a competitive strategy in persistent thickets of *Lantana camara* L. in three Australian forest communities. *Plant Ecology* 132, 85-95.

Gilani, A.H., Janbaz, K.H., 1993. Protective effect of *Artemisia scoparia* extract against acetaminophen induced hepatotoxicity. *General Pharmacology* 24, 1455-1458.

Gildermeister, E., Hoffmann, F., 1961. Die Ätherischen Öle, vol. VI. Akademie-Verlag, Berlin.

Giordano, O.S., Guerreiro, E., Pestchanker, M.J., Guzman, J., 1990. The gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones. *Journal of Natural Products* 53, 803-809.

Gomes, P.B., Mata, V.G., Rodrigues, A.E., 2005. Characterization of the Portuguese-grown *Cistus ladanifer* essential oil. *Journal of Essential Oil Research* 17, 160-165.

Gómez-Rodríguez, O., Zavaleta-Mejía, E., González-Hernández, V.A., Livera-Muñoz, M., Cárdenas-Soriano, E., 2003. Allelopathy and microclimatic modifica-

tion of intercropping with marigold on tomato early blight disease development, *Field Crops Research* 83, 27-34.

Graber, D.R., Jones, W.J., Johnson, J.A., 1995. Human and ecosystem health: the environment-agriculture connection in developing countries. *Journal of Agromedicine* 2, 47-64.

Graham, L.T., 1991. Flavonoid and isoflavonoid distribution in developing soybean seedling tissues and in seed and root exudates. *Plant Physiology* 95, 594-603.

Graven, E.H., Deans, S.G., Svoboda, K.P., Mavi, S., Gundidza, M.G., 1992. Antimicrobial and antioxidative properties of the volatile (essential) oil of *Artemisia afra* Jacq. *Flavour and Fragrance Journal*. 7, 121-123.

Grayer, R.J., Harborne, J.B., 1994. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. *Phytochemistry* 37, 19-42.

Greche, H., Mrabet, N., Zrira, S., Ismaïli-Alaoui, M., Benjilali, B., Boukir, A., 2009. The volatiles of the leaf oil of *Cistus ladanifer* L. var. *albiflorus* and Labdanum extracts of Moroccan origin and their antimicrobial activities. *Journal of Essential Oil Research* 21, 166-173.

Green, C., 2002. Export Development of Essential Oils and Spices by Cambodia. C.L. Green Consultancy Services, Kent, UK.

Grieve, M., 1984. A Modern Herbal. Penguin, London, UK.

Gronwald, J.W., 1994. Resistance to photosystem II inhibiting herbicides, en: Powles, S.B., Holtum, J.A.M. (Eds.), *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 27-60.

Guerreiro, E., García, E.E., Pestchanker, M.J., Enriz, R.D., Rodríguez, A.M., María, A., Wendel, G., 1995. Cytoprotective activity of minor constituents of *Artemisia douglasiana*. *Natural Product Letters* 6, 269-280.

Guerrini, A., Rossi, D., Paganetto, G., Tognolini, M., Muzzoli, M., Romagnoli, C., Antognoni, F., Vertuani, S., Medici, A., Bruni, A., Useli, C., Tamburini, E., Bruni, R., Sacchetti, G., 2011. Chemical characterization (GC/MS and NMR Fingerprinting) and bioactivities of South-African *Pelargonium capitatum* (L.) L'Her. (Geraniaceae) essential oil. *Chemistry and Biodiversity* 8, 624-642.

Guinot, P., Gargadennec, A., Valette, G., Fruchier, A., Andary, C., 2008. Primary flavonoids in marigold dye: extraction, structure, and involvement in dyeing process. *Phytochemical Analysis* 19, 46-51.

Guisalberti, E.L., 2000. *Lantana camara* L. (Verbenaceae). *Fitoterapia* 71, 467-486.

- Gunsolus, J.L., Curran, W.S., 1999. Herbicide mode of action and injury symptoms. North Central Regional Extension Publication N° 377. University of Minnesota, St. Paul, Minnesota.
- Guralnick, L.J., Cline, A., Smith, M., Sage, R., 2008. Evolutionary physiology: the extent of C4 and CAM photosynthesis in the genera *Anacampseros* and *Grahamia* of the Portulacaceae. *Journal of Experimental Botany* 59, 1735-1742.
- Hager, A.G., Refsell, D., 2008. Toxicity of herbicides, en: Illinois Agricultural Pest Management Handbook. University of Illinois, Champaign, Illinois, pp. 267-270.
- Haig, T.J., Haig, T.J., Seal, A.N., Pratley, J.E., An, M., Wu, H., 2009. Lavender as a source of novel plant compounds for the development of a natural herbicide. *Journal of Chemical Ecology* 35, 1129-1136.
- Haig, T., Pratley, J., An, M., Haig, T., Hildebrand, S., 2005. Using allelopathy to search for new natural herbicides from plants, en: Harper, J.D.I., An, M., Wu, H., Kent, J.H. (Eds.), Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy. Charles Sturt University, Wagga, Australia, pp. 565-568.
- Hakansson, S., 1983. Seasonal variation in the emergence of annual weeds-an introductory investigation in Sweden. *Weed Research* 23, 313-324.
- Halligan, J.P., 1975. Toxic terpenes from *Artemisia californica*. *Ecology* 56, 999-1003.
- Harborne, J.B., 1967. Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic Press, New York.
- Hardell, L., Eriksson, M., Nordstrom, M., 2002. Exposure to pesticides as risk factor for non-Hodgkin's lymphoma and hairy cell leukemia: pooled analysis of two Swedish case-control studies. *Leukemia and Lymphoma* 43, 1043-1049.
- Hare, J.D., 2002. Seasonal variation in the leaf resin components of *Mimulus aurantiacus*. *Biochemical Systematics and Ecology* 30, 709-720.
- Harrison, S.K., 1990. Interference and seed production by common lambsquarters (*Chenopodium album*) in soybeans (*Glycine max*). *Weed Science* 38, 113-118.
- Hart, S., Lis-Balchin, M., 2002. Pharmacology of *Pelargonium* essential oils and extracts *in vitro* and *in vivo*, en: Lis-Balchin, M. (Ed.), *Geranium and Pelargonium*, medicinal and aromatic plants-industrial profiles. Taylor and Francis, London, UK, pp. 116-131.
- Harvey, S.J., Porcella, F., 1993. Vernal seedling emergence model for common lambsquarters (*Chenopodium album*). *Weed Science* 41, 309-316.

- Hashimoto, Y., Seudo, K., Okamoto, T., Nagao, M., Takahashi, Y., Sugimura, T., 1979. Mutagenicities of 4-hydroxy-1,4-benzoxazinones naturally occurring in maize plants and of related compounds. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 66, 191-194.
- Hassiotis, C.N., Lazari, D.M., Vlachonassios, K.E., 2010. The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula angustifolia* Mill.
- Haudricourt, A.G., Hedin, L., 1993. L'uomo e le piante coltivate. Flaccovio Editore, Palermo.
- Heap, I., 2006. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 15 dicembre 2006. <http://www.weedscience.com>
- Heap, I., 2011. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 20 junio 2011. <http://www.weedscience.com>
- Heap, I.M., 1997. The occurrence of herbicide-resistant weeds worldwide. *Pesticide Science* 51, 235-243.
- Hedin, P.A., 1985. Bioregulators for pest control, Hedin, P.A. (Ed.), ACS Symposium Series 276, American Chemical Society, Washington, D.C.
- Heisey, R.M., 1996. Identification of an allelopathic compound from *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) and characterization of its herbicidal activity. *American Journal of Botany* 83, 192-200.
- Hellyer, R.O., 1968. The occurrence of some beta-triketones in the steam-volatile oils of some myrtaceous Australian plants. *Australian Journal of Chemistry* 21, 2825-2828.
- Herranz, J.M., Ferrandis, P., Copete, M.A., Duro, E.M., Zalacain, A., 2006. Effect of allelopathic compounds produced by *Cistus ladanifer* on germination of 20 Mediterranean taxa. *Plant Ecology* 184, 259-272.
- Hethelyi, E., Danos, B., Tetenyi, P., 1986. GC-MS analysis of the essential oils of four *Tagetes* species and the anti-microbial activity of *Tagetes minuta*. *Flavour and Fragrance Journal* 1, 169-173.
- Hethelyi, E., Danos, B., Tetenyi, P., Juhasz, G., 1987. Phytochemical studies on *Tagetes* species, infraspecific differences of the essential oil in *T. minuta* and *T. tenuifolia*. *Herba Hungaria* 26, 145-158.
- Hethelyi, E., Tetenyi, P., Kaposi, P., Danos, B., Kernoczi, Zs., Kuki, G.Y., 1988. GC/MS investigation of antimicrobial and repellent compounds *Herba Hungaria*, 27, 89-105.

- Hoffman, G.R., Hazlett, D.L., 1977. Effects of aqueous *Artemisia* extracts and volatile substances on germination of selected species. *Journal of Range Management* 30, 134-137.
- Hoffman, M.L., Weston, L.A., Snyder, J.C., Regnier, E.E., 1996. Separating the effects of sorghum (*Sorghum bicolor*) and rye (*Secale cereale*) root and shoot residues on weed development. *Weed Science* 44, 402-407.
- Hoffmann, J.J., Jolad, S.D., Hutter, L.K., McLaughlin, S.P., Savage, S.D., Cunningham, S.D., Genet, J.L., Ramsey, G.R., 1992. Glauucarubolone glucoside, a potential fungicidal agent for the control of grape downy mildew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1056-1057.
- Hofman, J., Hofmanová, O., 1971. 1,4-Benzoxazine derivatives in plants: absence of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3/4H-one from uninjured *Zea mays* plants. *Phytochemistry* 10, 1441-1444.
- Holden, L.R., Graham, J.A., Whitmore, R.W., Alexander, W.J., Pratt, R.W., Liddle, S.K., Piper, L.L., 1992. Results of the national alachlor well water survey. *Environmental Science and Technology* 26, 935-943.
- Holm, L., Doll, J., Holm, E., Pancho, J., Herberger, J., 1997. World weeds: natural histories and distribution. John Wiley and Sons, Inc., Toronto, Ontario, pp. 226-235.
- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V., Herberger, P.D., 1977. The World's Worst Weeds: Distribution and Biology. University Press of Hawaii, Honolulu.
- Holm, L.G., Plucknett, D.L., Pancho, J.V., Herberger, J.P., 1991. The World's Worst Weeds: Distribution and Biology. The University Press of Hawaii, Malabar, Florida, USA.
- Holm, Y., Laakso, I., Hiltunen, R., Galambosi, B., 1997. Variation in the essential oil composition of *Artemisia annua* L. of different origin cultivated in Finland. *Flavour and Fragrance Journal* 12, 241-246.
- Holt, J.S., 1992. History of identification of herbicide-resistant weeds. *Weed Technology* 6, 615-620.
- Hooks, C.R.R., Wang, K.H., Ploeg, A., McSorley, R., 2010. Using marigold (*Tagetes* spp.) as a cover crop to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology* 46, 307-320.
- Hori, M., 2003. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). *Applied Entomology and Zoology* 38, 467-473.

- Hossain, M.B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A.B., Brunton, N.P., 2011. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry* 126, 339-346.
- Hossain, M.K., Alam, M.N., 2010. Allelopathic effects of *Lantana camara* leaf extract on germination and growth behavior of some agricultural and forest crops in Bangladesh. *Pakistani Journal of Weed Science Research* 16, 217-226.
- Ietswaart, J.H., 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Ph.D Thesis. Leiden Botanical Series 4. Leiden University Press, The Hague.
- International Union for Conservation of Nature (IUCN), 2011. Invasive Species Specialist Group. 100 World's Worst Invasive Alien Species. <http://www.issg.org/database/species/search.asp?st=100ss&fr=1&str=&lang=EN>
- Itokawa, H., Kishi, E., Morita, H., Takeya, K., 1992. Cytotoxic quassinoids and tirucallane-type triterpenes from the woods of *Eurycoma longifolia*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 40, 1053-1055.
- Jabbar, A., Zaman, M.A., Iqbal, Z., Yaseen, M., Shamim, A., 2007. Anthelmintic activity of *Chenopodium album* (L.) and *Caesalpinia crista* (L.) against Trichostrongylid nematodes of sheep. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 86-91.
- Jain, R., Singh, M., Dezman, D.J., 1989. Qualitative and quantitative characterization of phenolic compounds from lantana (*Lantana camara*) leaves. *Weed Science* 37, 302-307.
- Jan, G., Khan, M.A., Farzana, G., Ahmad, M., Jan, M., Zafar, M., 2010. Ethnobotanical study of common weeds of Dir Kohistan Valley, Khyber Pakhtoonkhwa, Pakistan. *Pakistan Journal of Weed Science Research* 16, 81-88.
- Javaid, A., Shafique, S., Bajwa, R., Shafique, S., 2006. Effect of aqueous extracts of allelopathic crops on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. *South African Journal of Botany* 72, 609-612.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P., Vivanco, J.M., 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 5878-5883.
- Jordan, N., 1999. Fitness effects of the triazine resistant mutation in *Amaranthus hybridus*: relative fitness in maize and soybean crops. *Weed Research* 39, 493-505.
- Juhler, R.K., Henriksen, T.H., Ernstsens, V., Vinther, F.P., Rosenberg, P., 2008. Impact of basic soil parameters on pesticide disappearance investigated by multiva-

riate partial least square regression and statistics. *Journal of Environmental Quality* 37, 1719-1732.

Juhler, R.K., Sørensen, S.R., Larsen, L., 2001. Analysing transformation products of herbicide residues in environmental samples. *Water Research* 35, 1371-1378.

Juhren, M.C., 1966. Ecological observations on *Cistus* in the Mediterranean vegetation. *Forest Science* 12, 415-426.

Juteau, F., Masotti, V., Bessièrre, J.M., Dherbomez, M., Viano, J., 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia* 73, 532-535.

Kalembe, D., Kunicka, A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10, 813-829.

Kaloustian, J., Abou, L., Mikail, C., Amiot, M.J., Portugal, H., 2005. Southern French thyme oils: chromatographic study of chemotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85, 2437-2444.

Kanchanapoom, T., Kasai, R., Picheansoonthon, C., Yamasaki, K., 2001. Megastigmane, aliphatic alcohol and benzoxazinoid glycosides from *Acanthus ebracteatus*. *Phytochemistry* 58, 811-817.

Kapusta, G., 1979. Seedbed tillage and herbicide influence on soybean (*Glycine max*) weed control and yield. *Weed Science* 27, 520-526.

Karpouhtsis, I., Pardali, E., Feggou, E., Kokkini, S., Scouras, Z.G., Mavragani-Tsipidou, P., 1998. Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1111-1115.

Karssen, C.M., 1970. The light promoted germination of the seeds of *Chenopodium album* L. III. Effect of the photoperiod during growth and development of the plants on the dormancy of produced seeds. *Acta Botanica Neerlandica* 19, 81-94.

Karssen, C.M., 1980/81. Patterns of change in dormancy during burial of seeds in soil. *Israel Journal of Botany* 29, 65-73.

Kato, T., Tsunakawa, M., Sasaki, N., Aizawa, H., Fujita, K., Kitahara, Y., Takahashi, N., 1977. Growth and germination inhibitors in rice husks. *Phytochemistry* 16, 45-48.

Kato-Noguchi, H., 2004. Allelopathic substance in rice root exudates: rediscovery of momilactone B as an allelochemical. *Journal of Plant Physiology* 161, 271-276.

Katz, D.A., Sneh, B., Friedman, J., 1987. The allelopathic potential of *Coridothymus capitatus* L. (Labiatae). Preliminary studies on the roles of the shrub in the

inhibition of annuals germination and/or to promote allelopathically active actinomycetes. *Plant and Soil* 98, 53-66.

Kauffman, C.S., Weber, L.E., 1990. Grain amaranth, en: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), *Advances in New Crops. Proceedings of the first national symposium 'New crops: research, development, economics'*, Indianapolis, Indiana, USA, 23-26 October 1988. Timber Press, Portland, Orlando, pp. 127-139.

Kelsey, R.G., Shafizadeh, F., 1979. Sesquiterpene lactones and systematics of the genus *Artemisia*. *Phytochemistry* 18, 1591-1611.

Kettles, M.A., Browning, S.R., Prince, T.S., Horstman, S.W., 1997. Triazine herbicide exposure and breast cancer incidence: an ecological study of Kentucky counties. *Environmental Health Perspectives* 105, 1222-1227.

Khan, E.A., Khan, M.A., Ahmad, H.K., Khan, F.U., 2004. Allelopathic effects of eucalyptus leaf extracts on germination and growth of cotton. *Indus Cottons* 1, 96-100.

Khan, M., Srivastava, S.K., Jain, N., Syamasundar, K.V., Yadav, A.K., 2003. Chemical composition of fruit and stem essential oils of *Lantana camara* from northern India. *Flavour and Fragrance Journal* 18, 376-379.

Khan, M., Srivastava, S.K., Syamasundar, K.V., Singh, M., Naqvi, A.A., 2002. Chemical composition of leaf and flower essential oil of *Lantana camara* from India. *Flavour and Fragrance Journal* 17, 75-77.

Khan, M.A., Hussain, I., Khan, E.A., 2008. Suppressing effects of *Eucalyptus camaldulensis* L. on germination and seedling growth of six weeds. *Pakistan Journal of Weed Science Research* 14, 201-207.

Kidd, P.S., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunsé, B., Barceló, J., 2001. The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three variety of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Experimental Botany* 52, 1339-1352.

Kirtikar, K.R., Basu, B.D., 1935. *Indian Medicinal Plants*, III. Bishen Singh and Mahendra Pal Singh, Dehradun.

Kiso, Y., Ogasawara, S., Hirota, K., Watanabe, N., Oshima, Y., Konno, C., Hikino, H., 1984. Antihepatotoxic principles of *Artemisia capillaris* buds. *Planta Medica*, 50, 81-85.

Klayman, D.L., 1985. Qinghaosu (Artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science* 228, 1049-1055.

- Knudsen, C.G., Lee, D.L., Michaely, W.J., Chin, H.L., Nguyen, N.H., Rusay, R.J., Cromartie, T.H., Gray, R., Lake, B.H., Fraser, T.E.M., Cartwright, D., 2000. Discovery of the triketone class of HPPD inhibiting herbicides and their relationship to naturally occurring beta-triketones, en: Narwal, S.S., Hoagland, R.E., Dilday, R.H., Reigosa Roger M.J., Hoagland, R.E.S. (Eds.), *Allelopathy in ecological agriculture and forestry*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp 101-113.
- Kobaisy, M., Tellez, M.R., Dayan, F.E., Duke, S.O., 2002. Phytotoxicity and volatile constituents from leaves of *Callicarpa japonica* Thunb. *Phytochemistry* 61, 37-40.
- Kocacaliskan, I., Terzi, I., 2001. Allelopathic effects of walnut leaf extracts and juglone on seed germination and seedling growth. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 76, 436-440.
- Kohli, R.K., 1990. Allelopathic properties of *Eucalyptus*. MAB-DoEn project report. Government of India.
- Kohli, R.K., Batish, D.R., Singh, H.P., 1998. Eucalypt oil for the control of parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.). *Crop Protection* 17, 119-122.
- Kohli, R.K., Parveen, C., Anita, K., 1988. Impact of *Eucalyptus* on *Parthenium*-a weed. *Indian Journal of Range Management* 9, 63-67.
- Kohli, R.K., Singh, D., 1991. Allelopathic impact of volatile components from *Eucalyptus* on crop plants. *Biologia Plantarum (Praha)* 33, 475-483.
- Koitabashi, R., Suzuki, T., Kawazu, T., Sakai, A., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., 1997. 1,8-Cineole inhibits roots growth and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L. *Journal of Plant Research* 110, 1-6.
- Kokkini, S., Vokou, D., 1989. *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. *Economic Botany* 43, 192-202.
- Kolodziej, H., 2007. Fascinating metabolic pools of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*, traditional and phytomedicinal sources of the herbal medicine Umckaloabo. *Phytomedicine* 14, 9-17.
- Kolpin, D.W., Thurman, E.M., Linhart, S.M., 1998. The environmental occurrence of herbicides: the importance of degradates in ground water. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35, 385-390.
- Kong, C.H., Wang, P., Zhang, C.X., Zhang, M.X., Hu, F., 2006. Herbicidal potential of allelochemicals from *Lantana camara* against *Eichhornia crassipes* and the alga *Microcystis aeruginosa*. *Weed Research* 46, 290-295.

- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., Mete, E., 2008. Anti-fungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and *p*-cymene. *Bioresource Technologie* 99, 8788-8795.
- Koroch, A.R., Rodolfo Juliani, H., Zygadlo, J.A., 2007. Bioactivity of essential oils and their components, en: Berger, R.G. (Ed.), *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 87-115.
- Kotrikla, A., Gatidou, G., Lekkas, T.D., 1999. Toxic effects of atrazine, deethyl-atrazine, deisopropyl-atrazine and metolachlor on *Chlorella fusca var-fusca*. *Global Nest: the International Journal* 1, 39-45.
- Krueger, R., Dover, K.E., McSorley, R., Wang, K.H., 2007. Marigolds (*Tagetes* spp.) for nematode management. *ENY-056*, a series of the Entomology and Nematology Department, Institute of food and agricultural sciences, University of Florida, USA.
- Kruger, E.L., Rice, P.J., Anhalt, J.C., Anderson, T.A., Coats, J.R., 1997. Comparative fates of atrazine and deethylatrazine in sterile and nonsterile soils. *Journal of Environmental Quality* 26, 95-101.
- Ladero, M., Navarro, F., Valle, C.J., 1984. Contribución al conocimiento de la flora halófila de la depresión del Duero. *Studia Botanica* 3, 263-266.
- Lampe, J.W., 2003. Spicing up a vegetarian diet: chemopreventive effects of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition* 78, 579-583.
- Langenheim, J.H., 1994. Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology* 20, 1223-1280.
- Lasserre, B., Kaiser, R., Chanh, P.H., Ifansyah, N., Gleye, J., 1983. Effects on rats of aqueous extracts of plants used in folk medicine as antihypertensive agents: *Ribes nigrum*, *Olea europaea*, *Leonotis nepetaefolia*, *Ilex aquifolium*, *Viscum album*, *Erigeron canadensis*, *Solidago virga-aurea*. *Naturwissenschaften* 70, 95-96.
- Lawrence, B.M., 1985. Essential oils of the *Tagetes* genus. *Perfumer and Flavorist* 10, 73-82.
- Lazzeri, L., Manici, L.M., 2001. Allelopathic effect of glucosinolate-containing plant green manure on *Pythium* sp. and total fungal population in soil. *HortScience* 36, 1283-1289.
- LeBaron, H.M., 1991. Distribution and seriousness of herbicide-resistant weed infestations worldwide, en: Caseley, J.C., Cussans, G.W., Atkin, R.K. (Eds.), *Herbicide Resistance in Weeds and Crops*. Butterworth-Heinemann, Oxford, UK, pp. 27-43.

LeBaron, H.M., McFarland, J., 1990. Herbicide resistance in weeds and crops: an overview and prognosis, en: Green, M.B., LeBaron, H.M., Moberg, W.K. (Eds.), *Managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies*. ACS Symposium Series 421, American Chemical Society, Washington DC, pp. 336-352.

Lee, D.L., Prisbylla, M.P., Cromartie, T.H., Dagarin, D.P., Howard, S.W., Provan, W.M., Ellis, M.K., Fraser, T., Mutter, L.C., 1997. The discovery and structural requirements of inhibitors of *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Weed Science* 45, 601-609.

Lee, K.H., 1999. Novel antitumor agents from higher plants. *Medicinal Research Reviews* 19, 569-596.

Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K.G., 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91, 131-137.

Lee, S.Y., Shim, K.C., Kil, J.H., 2002. Phytotoxic effect of aqueous extracts and essential oils from southern marigold (*Tagetes minuta*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 30, 161-169.

Legrand, D., 1958. Desmembración del género *Portulaca* II. *Comunicaciones Botánicas del Museo de Historia Natural de Montevideo* 3, 1-17.

Lentini, F., Venza, F., 2007. Wild food plants of popular use in Sicily. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 3, 15-26.

Leporatti, M.L., Corradi, L., 2001. Ethnopharmacobotanical remarks on the province of Chieti town (Abruzzo, Central Italy). *Journal of Ethnopharmacology* 74, 17-40.

Lerda, D., Rizzi, R., 1991. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Mutation Research* 262, 47-50.

Leroux, G.D., Benoit, D.L., Banville, S., 1996. Effect of crop rotations on weed control, *Bidens cernua* and *Erigeron canadensis* populations, and carrot yields in organic soils. *Crop Protection* 15, 171-178.

Levitt, G., 1991. Discovery of the sulfonylurea herbicides, en: Baker, D.R., Fenyes, J.G., Moberg, W.K., Cross, B. (Eds.), *Synthesis and chemistry of agrochemicals II*, ACS Symposium Series 443. American Chemical Society, Washington, D.C, pp. 16-31.

Lidert, Z., Wing, K., Polonsky, J., Imakura, Y., Okano, M., Tani, S., Lin, Y.M., Kiyokawa, H., Lee, K.H., 1987. Insect antifeedant and growth inhibitory activity of

- forty-six quassinoids on two species of agricultural pests. *Journal of Natural Products* 50, 442-448.
- Lim, Y.Y., Quah, E.P.L., 2007. Antioxidant properties of different cultivars of *Portulaca oleracea*. *Food Chemistry* 103, 734-740.
- Lin, L.J., Peiser, G., Ying, B.P., Mathias, K., Karasina, F., Wang, Z., Itatani, J., Green, L., Hwang, Y.S., 1995. Identification of plant growth inhibitory principles in *Ailanthus altissima* and *Castela tortuosa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 1708-1711.
- Ling, Y.R., 1991a. The Old World *Seriphidium* (Compositae). *Bulletin of Botanical Research. Harbin* 11, 1-40.
- Ling, Y.R., 1991b. The Old World *Artemisia* (Compositae). *Bulletin of Botanical Research. Harbin* 12, 1-108.
- Ling, Y.R., 1995a. The New World *Artemisia* L., en: Hind, D.N.J., Jeffrey, C., Pope, G.V. (Eds.), *Advances in Compositae Systematics*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 255-281.
- Ling, Y.R., 1995b. The New World *Seriphidium* (Besser) Fourr, en: Hind, D.N.J., Jeffrey, C., Pope, G.V. (Eds.), *Advances in Compositae Systematics*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 283-291.
- Lis, A., Góra, J., 2000. Essential oil of *Conyza canadensis* (L.) Cronq. *Journal of Essential Oil Research* 12, 781-783.
- Lis-Balchin, M., Buchbauer, G., Ribisch, K., Wenger, M.T., 1998. Comparative antibacterial effects of novel *Pelargonium* essential oils and solvent extracts. *Letters in Applied Microbiology* 27, 135-141.
- Lis-Balchin, M., Hart, S., 1999. Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (*Lavandula angustifolia* P. Miller). *Phytotherapy Research* 13, 540-542.
- Lis-Balchin, M., Roth, G., 2000. Composition of the essential oils of *Pelargonium odoratissimum*, *P. exstipulatum*, and *P. × fragrans* (Geraniaceae) and their bioactivity. *Flavour and Fragrance Journal* 15, 391-394.
- Liu, X., Chen, Q., Wang, Z., Xie, L., Xu, Z., 2008. Allelopathic effects of essential oil from *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* on pathogenic fungi and pest insects. *Frontiers of Forestry in China* 3, 232-236.
- Longley, M., Sotherton, N.W., 1997. Factors determining the effects of pesticides upon butterflies inhabiting arable farmland. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 61, 1-12.

- López, M.L., Bonzani, N.E., Zygadlo, J.A., 2009. Allelopathic potential of *Tagetes minuta* terpenes by a chemical, anatomical and phytotoxic approach. *Biochemical Systematics and Ecology* 36, 882-890.
- López, S.B., López, M.L., Aragón, L.M., Tereschuk, M.L., Slanis, A.C., Feresin, G.E., Zygadlo, J.A., Tapia, A.A., 2011. Composition and anti-insect activity of essential oils from *Tagetes* L. species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 5286-5292.
- López-González, G., 2001. Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares. Mundi-Prensa, Madrid.
- Lorber, P., Muller, W.H., 1976. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: effects on seedling root tip ultrastructure. *American Journal of Botany* 63, 196-200.
- Lovell, S.T., Wax, L.M., Horak, M.J., Peterson, D.E., 1996. Imidazolinone and sulfonyleurea resistance in a biotype of common waterhemp (*Amaranthus rudis*). *Weed Science* 44, 789-794.
- Lugo, M.L., González, A., Talbert, R.E., 1995. Smooth pigweed (*Amaranthus hybridus* L.) interference with snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) quality. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico* 79, 173-179.
- Luo, X.D., Shen, C.C., 1987. The chemistry, pharmacology, and clinical applications of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives. *Medical Research Review* 7, 29-52.
- Lydon, J., Teasdale, J.R., Chen, P.K., 1997. Allelopathic activity of annual wormwood (*Artemisia annua*) and the role of artemisinin. *Weed Science* 45, 807-811.
- Mabberley, D.J., 1990. The plant-book. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Machado, M.I.L., Silva, M.G.V., Matos, F.J.A., Craveiro, A.A., Alencar, J.W., 1994. The presence of indole as minor constituent of *Tagetes erecta* leaf oil. *Journal of Essential Oil Research* 6, 203-205.
- Macías, F.A., 1995. Allelopathy in the search for natural herbicide models. *ACS Symposium Series* 582, 310-329.
- Macías, F.A., Chinchilla, N., Varela, R.M., Marin, D., Molinillo, J.M.G., 2005. Structure-activity relationships (SAR) studies of benzoxazinones and related compounds. Phytotoxicity on *Echinochloa crus-galli* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 4373-4380.

- Macías, F.A., Galindo, J.C.G., Castellano, D., Velasco, R.F., 2000. Sesquiterpene lactones with potential use as natural herbicide models (II): guaianolides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 5288-5296.
- Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Oliveros-Bastidas, A., Marín, D., Chinchilla, D., 2004. Allelopathy. A natural strategy for weed control. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 69, 13-23.
- Macías, F.A., Molinillo, J.M.G., Varela, R.M., Galindo, J.C.G., 2007. Allelopathy-a natural alternative for weed control. *Pest Management Science* 63, 327-348.
- Macías, F.A., Oliva, R.M., Varela, R.M., Torres, A., Molinillo, J.M.G., 1999. Allelopathic studies in cultivar species. 14. Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick. *Phytochemistry* 52, 613-621.
- Madsen, H.L., Bertelsen, G., 1995. Spices as antioxidants. *Trends in Food Science and Technology* 6, 271-277.
- Maillet, J., López-García, C., 2000. What criteria are relevant for predicting the invasive capacity of a new agricultural weed? The case of invasive American species in France. *Weed Research* 40, 11-26.
- Maiyo, Z.C., Ngunjiri, R.M., Matasyoh, J.C., Chepkorir, R., 2010. Phytochemical constituents and antimicrobial activity of leaf extracts of three *Amaranthus* plant species. *African Journal of Biotechnology* 9, 3178-3182.
- Malato-Beliz, J., Escudero, J.C., Buyolo, T., 1992. Application of traditional indices and of diversity to an ecotonal area of different biocoenes. The state of the art in vegetation science. International Association for Vegetation Science, Toledo, Spain.
- Malek, F., Boskabady, M.H., Borushaki, M.T., Tohidi, M., 2004. Bronchodilatory effect of *Portulaca oleracea* in airways of asthmatic patients. *Journal of Ethnopharmacology* 93, 57-62.
- Malik, A.A., Ahmad, J., Mir, S.R., Ali, M., Abdin, M.Z., 2009. Influence of chemical and biological treatments on volatile oil composition of *Artemisia annua* Linn. *Industrial Crops and Products* 30, 380-383.
- Márcia, S., Magriço, S., Alexandra, D., Dias, L.S., 2007. Allelopathic plants. 20. *Portulaca oleracea* L. *Allelopathy Journal* 19, 275-285.
- Mariotti, J.P., Tomi, F., Casanova, J., Costa, J., Bernardini, F., 1997. Composition of the essential oil of *Cistus ladaniferus* L. cultivated in Corsica (France). *Flavour and Fragrance Journal* 12, 147-151.

- Marrs, R.H., Frost, A.J., 1997. A microcosm approach to the detection of the effects of herbicide spray drift in plant communities. *Journal of Environmental Management* 50, 369-388.
- Marrs, R.H., Frost, A.J., Plant, R.A., 1991. Effects of herbicide spray drift on selected species of nature conservation interest: the effects of plant age and surrounding vegetation structure. *Environmental Pollution* 69, 223-235.
- Martin, B., 2002. *Eucalyptus*: A strategic forest tree, en: Wei, R.P., Xu, D. (Eds.), *Eucalyptus* plantations: research, management and development. Proceedings of the International Symposium, Guangzhou, China, 1-6 September 2002. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore, pp. 3-18.
- Martin, M.L., Moran, A., Carron, R., Montero, M.L., San Roman, L., 1988. Antipyretic activity of alpha and beta-santonin. *Journal of Ethnopharmacology* 23, 285-290.
- Masabni, J.G., Zandstra, B.H., 1999a. Discovery of a common purslane (*Portulaca oleracea*) biotype resistant to linuron. *Weed Technologie* 13, 599-605.
- Masabni, J.G., Zandstra, B.H., 1999b. A serine-to-threonine mutation in linuron-resistant *Portulaca oleracea*. *Weed Science* 47, 393-400.
- Masalles, R.M., Sans, F.X., Pino, J., 1996. Flora alóctona de origen americano en los cultivos de Cataluña. *Anales Jardín Botánico de Madrid* 54, 436-442.
- May, F.E., Ash, J.E., 1990. An assessment of the allelopathic potential of *Eucalyptus*. *Australian Journal of Botany* 38, 245-254.
- Maximous, S.L., 2004. Effect of harvest date and steam distillation time on essential oils of three *Eucalyptus* species growing in El-Kassasin region. Bull. Faculty of Agronomy, Cairo University 55, 71-84.
- McArthur, E.D., 1979. Sagebrush systematics and evolution, en: Sagebrush Ecosystem Symposium. Utah State University, Logan, pp. 14-22.
- McDuffie, H.H., Pahwa, P., McLaughlin, J.R., Spinelli, J.J., Fincham, S., Dosman, J.A., Robson, D., Skinnider, L.F., Choi, N.W., 2001. Non-Hodgkin's lymphoma and specific pesticide exposures in men: cross-Canada study of pesticides and health. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 10, 1155-1163.
- Mechant, E., Bulcke, R., De Marez, T., Hermann, O., Maier, H., May, M., Muchembled, C., Olsson, R., Wevers, J., Wilting, P., 2007. Resistance to metamitron in selected European populations of fat-hen (*Chenopodium album*) from sugar beet. Proceedings of the 70th IIRB Congress, Marrakech, Morocco, 11-13 April, pp. 251-269.

- Mehrotra, S., Rawat, A.K.S., Shome, U., 1993. Antimicrobial activity of the essential oils of some Indian *Artemisia* species. *Fitoterapia*, 64, 65-68.
- Merle, H., Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2007. Chemical composition of the essential oils from *Eriocephalus africanus* L. var. *africanus* populations growing in Spain. *Flavour and Fragrance Journal* 22, 461-464.
- Mersie, W., Singh, M., 1987. Allelopathic effect of lantana on some agronomic crops and weeds. *Plant and Soil* 98, 25-30.
- Miceli, A., Negro, C., Tommasi, L., 2006. Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochemical Systematics and Ecology* 34, 528-535.
- Miceli, A., Tommasi, L., Negro, C., De Leo, P., 2002. Composizione e variabilità dell'olio essenziale di *T. capitatus*. Proceeding of LXV Congress of SIFV, Riva del Garda (TN), 20-23 September.
- Miller, D.M., 2002. The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivars, their origins and growth in the wild, en: Lis-Balchin, M. (Ed.), *Geranium and Pelargonium*, Medicinal and Aromatic Plants-Industrial profiles. Taylor and Francis, London, UK, pp 49-79.
- Misra, L., Laatsch, H., 2000. Triterpenoids, essential oil and photo-oxidative-13-lactonization of pleanolic acid from *Lantana camara*. *Phytochemistry* 54, 969-974.
- Molisch, H., 1937. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie. Fischer, Jena, Germany.
- Möllenbeck, S., König, T., Schreier, P., Schwab, W., Rajaonarivony, J., Ranarivelo, L., 1997. Chemical composition and analyses of enantiomers of essential oils from Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal* 12, 63-69.
- Mondello, L., Verzera, A., Bonaccorsi, I., Chowdhury, J.U., Yusef, M., Begum, J., 1998. Studies in the Essential Oil Bearing Plants of Bangladesh. Part V. Composition of the Leaf oils of *Eucalyptus citriodora* Hook and *Eucalyptus alba* Reinw. ex. Blume. *Journal of Essential Oil Research* 10, 185-188.
- Monks, D., 1993. *Veg-I-News* 12, 23-26. Cooperative Extension Service. North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Moon, T., Cavanagh, H.M.A., Wilkinson, J.M., 2007. Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* spp. essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Essential Oil Research* 19, 171-175.

- Moon, T., Wilkinson, J.M., Cavanagh, H.M.A., 2006. Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*. *Parasitology Research* 99, 722-728.
- Moradshahi, A., Ghadiri, H., Ebrahimikia, F., 2003. Allelopathic effects of crude volatile oil and aqueous extracts of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. leaves on crops and weeds. *Allelopathy Journal* 12, 189-195.
- Morán, A., Martín, M.L., Montero, M.J., Ortiz de Urbina, A.V., Sevilla, M.A., San Roman, L., 1989. Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activity of the essential oil of *Artemisia caerulescens* subsp. *gallica*. *Journal of Ethnopharmacology* 307-317.
- Morvillo, C.M., de la Fuente, E.B., Gil, A., Martínez-Ghersa, M.A., González-Andújar, J.L., 2011. Competitive and allelopathic interference between soybean crop and annual wormwood (*Artemisia annua* L.) under field conditions. *European Journal of Agronomy* 34, 211-221
- Muller, W.H., 1986. Allelochemical mechanisms in the inhibition of herbs by chaparral shrubs, en: Putnam, A.R., Tang C.S. (Eds.), *The Science of Allelopathy*. Wiley-Interscience, New York, pp. 189-199.
- Muller, W.H., Muller, C.H., 1964. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia* species. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 91, 327-330.
- Müller, M.A.N., Herman, P.P.J., Kolberg, H.H., 2001. Fascicle 1: *Eriocephalus* and *Lasiospermum*. *Flora Southern Africa* 33, 1-63.
- Naber, D., Johanningmeier, U., van Rensen, J.J., 1990. A rapid method for partial mRNA and DNA sequence analysis of the photosystem II psbA gene. *Zeitschrift für Naturforschung* 45, 418-422.
- Napoli, E.M., Curcuruto, G., Ruberto, G., 2010. Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary. *Biochemical Systematics and Ecology* 38, 659-670.
- Narwal, S.S., 1994. *Allelopathy in crop production*. Scientific Publishers, Jodhpur, India.
- Naseem, M., Aslam, M., Ansar, M., Azhar, M., 2009. Allelopathic effects of sunflower water extract on weed control and wheat productivity. *Pakistan Journal of Weed Science Research* 15, 107-116.
- Nemes-Kósa, S., Cserháti, T., 1995. Quantitative structure-activity relationship study on the inhibitory effect of some herbicides on the growth of soil microorganisms. *Journal of Applied Microbiology* 79, 483-491.

- Newman, E.I., 1982. The possible relevance of allelopathy to agriculture. *Pesticide Science* 13, 575-582.
- Ngassoum, M.B., Yonkeu, S., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Schmaus, G., Hammer-schmidt, F.J., 1999. Chemical composition of essential oils of *Lantana camara* leaves and flowers from Cameroon and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal* 14, 245-250.
- Niemeyer, H.M., Perez, F.J., 1995. Potential of hydroxamic acids in control of cereal pests, diseases, and weeds, en: Inderjit, Dakshini, K.M.M., Einhellig, F.A. (Eds.), *Allelopathy: organisms, processes, and applications*. ACS Symposium Series 582. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 260-270.
- Njenga, E.W., 2005. The chemotaxonomy, phylogeny and biological activity of the genus *Eriocephalus* L. (Asteraceae). PhD Thesis, Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg.
- Njenga, E.W., Viljoen, A.M., 2006. *In vitro* 5-lipoxygenase inhibition and anti-oxidant activity of *Eriocephalus* L. (Asteraceae) species. *South African Journal of Botany* 72, 637-641.
- Novak, J., Christina, B., Langbehn, B., Pank, F., Skoula, M., Gotsiou, Y., Franz, C.M., 2000. Ratios of *cis*- and *trans*-sabinene hydrate in *Origanum majorana* L. and *Origanum midrophyllum* (Benth) Vogel. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 697-704.
- Ogg, A.G., Dawson, J.H., 1984. Time of emergence of eight weed species. *Weed Science* 32, 327-335.
- Oleszek, W., 1987. Allelopathic effects of volatiles from some Cruciferae species on lettuce, barnyard grass and wheat growth. *Plant and Soil* 102, 271-273.
- Oliveira, I., Valentão, P., Lopes, R., Andrade, P.B., Bento, A., Pereira, J.A., 2009. Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleracea* L. leaves and stems. *Microchemical Journal* 92, 129-134.
- O'Neill, M.J., Bray, D.H., Boardman, P., Phillipson, J.D., Warhurst, D.C., 1985. Plants as sources of antimalarial drugs. 1. *In vivo* test method for the evaluation of crude extracts from plants. *Planta Medica* 51, 394-398.
- Oomen, H.A.P.C., Grubben, G.J.H., 1978. Tropical leaf vegetables in human nutrition. Communication 69, Department of Agricultural Research, Royal Tropical Institute, Amsterdam, Netherlands. Orphan Publishing Co., Willemstad, Curacao.
- Osuna, M.D., 2002. Mecanismo de resistencia a herbicidas inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS) en biotipos de malas hierbas. Tesis Doctoral. Escuela Técnica

Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

Ouamba, J.M., Ouabonzi, A., Ekouya, A., Bessière, J.M., Menut, C., Abena, A.A., Banzouzi, J.T., 2006. Volatile constituents of the essential oil leaf of *Lantana salviifolia* Jacq. (Verbenaceae). *Flavour and Fragrance Journal* 21, 158-161.

Oudhia, P., 1999. Allelopathic effects of *Lantana camara* L. on germination of soybean. *Legume Research* 22, 273-274.

Oudhia, P., 2001. Allelopathic research on chickpea seeds in Chhattisgarh (India) region: an overview. *Ecology, Environment and Conservation* 7, 31-34.

Oudhia, P., Kolhe, S.S., Tripathi, R.S., 1998. Allelopathic effect of *Blumea lacera* L. on rice and common Kharif weeds. *Oryza* 35, 175-177.

Oudhia, P., Tripathi, R.S., 1999. Allelopathic effect of *Lantana camara* L. on rice. *Agricultural Science Digest* 19, 43-45.

Oudhia, P., Tripathi, R.S., 2000. Allelopathic effect of *Lantana camara* L. on wheat var. *sujata*. *Crop Research* 19, 357-360.

Owen, M.D.K., Zelaya, I.A., 2005. Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Management Science* 61, 301-311.

Oyedeki, A.O., Ekundayo, O., Olawore, O.N., Koenig, W.A., 2000. Essential oil composition of two varieties of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from Nigeria. *Journal of Essential Oil Research* 12, 102-104.

Özden, S., Özden, T., Attila, J., Küçükislamoglu, M., Okatan, A., 1992. Isolation and identification via high performance liquid chromatography and thin layer chromatography of benzoxazolinone precursors from *Consolida orientalis* flowers. *Journal of Chromatography* 609, 402-406.

Pacciaroni, A.V., Mongelli, E., Ariza Espinar, L., Romano, A., Ciccia, G., Silva, G.L., 2000. Bioactive constituents of *Conyza albida*. *Planta Medica* 66, 720-723.

Pagula, F.P., Baser, K.H.C., Kurkcuoglu, M., 2000. Essential oil composition of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from Mozambique. *Journal of Essential Oil Research* 12, 333-335.

Palumbi, S.R., 2001. Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science* 293, 1786-1790.

Panagopoulos, I., Bornman, J.F., Björn, L.O., 1992. Response of sugar beet plants to ultraviolet-B (280-320 nm) radiation and Cercospora leaf spot disease. *Physiologia Plantarum* 84, 140-145.

- Pandey, D.K., Kauraw, L.P., Bhan, V.M., 1993. The allelopathic effect of parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.) leaf residue (dry leaf powder, DLP) on water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart Solms.). I. Effect of leaf residue. *Journal of Chemical Ecology* 19, 2651-2662.
- Pandji, C., Grimm, C., Wray, V., Witte, L., Proksch, P., 1993. Insecticidal constituents from four species of the Zingiberaceae. *Phytochemistry* 43, 415-431.
- Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C., 2004. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 40, 517-525.
- Papanov, G., Bozov, P., Malakov, P., 1992. Triterpenoids from *Lavandula spica*. *Phytochemistry* 31, 1424-1426.
- Pappas, R.S., Sheppard-Hanger, S., 2000. Essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from south Florida: a high cryptone/low cineole eucalyptus. *Journal of Essential Oil Research* 12, 383-384.
- Parry, O., Marks, J.A., Okwuasaba, F.K., 1993. The skeletal muscle relaxant action of *Portulaca oleracea*: role of potassium ions. *Journal of Ethnopharmacology* 40, 187-194.
- Pascual, T., Bellido, I.S., Basabe, P., Marcos I.S., Ruano I.F., Urones J.G., 1982. Labdane diterpenoids from *Cistus ladaniferus*. *Phytochemistry* 21, 899-901.
- Pascual, T., Urones, J.G., Basabe, P., 1974. Flavonoides del *Cistus ladanifer* L. *Anales de Química* 70, 155-157.
- Pascual, T., Urones, J.G., Basabe, P., Aubanell, F.H., 1979. Componentes minoritarios de *Cistus ladaniferus* L.: Lactosas. *Anales de Química* 75, 335-340.
- Pascual, T., Urones, J.G., González, M., 1977. Terpenoides monohidroxilados de la gomorresina de *Cistus ladanifer* L. *Anales de Química* 73, 1024-1028.
- Pascual, T., Vara, A., Urones, J.G., San Feliciano, A., 1972. Estudio de la gomorresina de *Cistus ladanifer* L. *Química* 68, 727-732.
- Pattnaik, S., Subramanyam, V.R., Kole, C.R., 1996. Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils *in vitro*. *Microbios* 86, 237-246.
- Pavela, R., 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia* 76, 691-696.
- Peñalver, P., Huerta, B., Borge, C., Astorga, R., Romero, R., Perea, A., 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacte-

riaceae family. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 113, 1-6.

Pérez, J.G., Torres, S., Puente, M., Aguilar, R., 2002. Efecto alelopático del extracto acuoso de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) sobre ocho cultivos económicos. Documento online.

<http://www.ucf.edu.cu/URBES/CD/ALELOPATIA%20DEL%20TABACO.htm>

Pérez-Leal, R., García-Mateos, M.R., Vásquez-Rojas, T.R., Colinas-León, M.T., 2005. Allelopathic potential of *Petiveria alliacea* L. *Agronomy for Sustainable Development* 25, 177-182.

Perron, F., Légère, A., 2000. Effects of crop management practices on *Echinochloa crus-galli* and *Chenopodium album* seed production in a maize/soyabean rotation. *Weed Research* 40, 535-547.

Petersen, J., Belz, R., Walker, F., Hurlle, K., 2001. Weed suppression by release of isothiocyanates from turnip-rape mulch. *Agronomy Journal* 93, 37-43.

Phipps, R.H., Park, J.R., 2002. Environmental benefits of genetically modified crops: global and European perspectives on their ability to reduce pesticide use. *Journal of Animal and Feed Sciences* 11, 1-18.

Piccaglia, R., Marotti, M., 1991. Composition of the essential oil of an Italian *Thymus vulgaris* L. ecotype. *Flavour and Fragrance Journal* 6, 241-244.

Pignatti, S., 1982a. Flora d'Italia, vol. I. Edagricole, Bologna, Italy.

Pignatti, S., 1982b. Flora d'Italia, vol. II. Edagricole, Bologna, Italy.

Poellnitz, K.V., 1934. Versuch eine Monographie der Gattung *Portulaca* L. *Feddes Repertorium* 37, 240-320.

Polonsky, J., 1983. Chemistry and biological activity of the quassinoids, en: Waterman, P.G., Grundon, M.F. (Eds.), Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales. Academic Press, London, pp. 247-266.

Ponting, C., 1991. A Green History of the World, Penguin Books, New York.

Porte, A., Godoy, R., 2008. Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (thyme) essential oil from Rio de Janeiro State (Brazil). *Journal of the Serbial Chemical Society* 73, 307-310.

Powles, S.B., 2003. My view. *Weed Science* 51, 471.

- Preston, C.A., Betts, H., Baldwin, I.T., 2002. Methyl jasmonate as an allelopathic agent: sagebrush inhibits germination of a neighboring tobacco, *Nicotiana attenuate*. *Journal of Chemical Ecology* 28, 2343-2369.
- Putnam, A.R., 1983. Allelopathic chemicals: nature's herbicides in action. *Chemical and Engineering News* 61, 34-45.
- Putnam, A.R., 1985. Weed allelopathy, en: Duke, S.O. (Ed.), *Weed Physiology* Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 131-150.
- Putnam, A.R., 1988. Allelopathy: problems and opportunities in weed management, en: Altieri, M.A., Liebman, M. (Eds.), *Weed management in agroecosystems: ecological approaches*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 77-88.
- Putnam, A.R., Tang, C.S., 1986. Allelopathy: State of the Science, en: Putnam, A.R., Tang, C.S. (Eds.), *The Science of Allelopathy*. John Wiley and Sons, New York, pp. 1-22.
- Qaralleh, H.N., Abboud, M.M., Khleifat, K.M., Tarawneh, K.A., Althunibat, O.Y., 2009. Antibacterial activity in vitro of *Thymus capitatus* from Jordan. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 22, 247-251.
- Qasem, J.R., 2002. Allelopathic effects of selected medicinal plants on *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium murale*. *Allelopathy Journal* 10, 105-122.
- Qasem, J.R., Hill, T.A., 1989. Possible rôle of allelopathy in the competition between tomato, *Senecio vulgaris* L. and *Chenopodium album* L. *Weed Research* 29, 349-356.
- Rabbinge, R., Oijen, M., 1997. Scenario studies for future agriculture and crop protection. *European Journal of Plant Pathology* 103, 197-201.
- Rajeswara Rao, B.R., Kaul, P.N., Mallavarapu, G.R., Ramesh, S., 1996. Effect of seasonal climatic changes on biomass yield and terpenoid composition of rose-scented geranium (*Pelargonium* species). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24, 627-635.
- Rana, V.S., Prasad, D., Blázquez, M.A., 2005. Chemical composition of the leaf oil of *Lantana camara*. *Journal of Essential Oil Research* 17, 198-200.
- Rao, A.N., Johnson, D.E., Sivaprasad, B., Ladha, J.K., Mortimer, A.M., 2007. Weed management in direct-seeded rice. *Advances in Agronomy* 93, 153-255.
- Rashed, A.N., Afifi, F.U., Disi, A.M., 2003. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *Journal of Ethnopharmacology* 88, 131-136.

- Rask, L., Andreasson, E., Ekbom, B., Eriksson, S., Pontoppidan, B., Meijer, J., 2000. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology* 42, 93-113.
- Rastogi, R.P., Mehrotra, B.N., 1995. Compendium of Indian medicinal plants, vol. 1. Lucknow and Publication and Information Directorate, CSIR. Central Drug Research Institute, New Delhi.
- Rawate, P.D., 1983. Amaranth (pigweed): A crop to help solve the world protein shortage, en: Lockeretz, A.W. (Ed.), Environmentally Sound Agriculture. Selected Papers from the Fourth International Conference of the International Federation of Organic Agriculture Movements. Praeger, New York, pp. 287-298.
- Relyea, R.A., 2005. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications* 15, 618-627.
- Ren, R., Wang, Y., Zhang, R., Gao, S., Zhang, H., Yu, A., 2010. Solvent (ionic liquid) impregnated resin-based extraction coupled with dynamic ultrasonic desorption for separation and concentration of four herbicides in environmental water. *Talanta* 83, 1392-1400.
- Reynolds, T., 1987. Comparative effect of alicyclic compounds and quinones on inhibition of lettuce fruit germination. *Annals of Botany* 60, 215-223.
- Rhoads, H., Gowgani, G., Croissant, G., Mitich, L.W., 1989. Weeds, en: Principles of weed control in California, second ed. California Weed Conference. Thomson Publications, Fresno, California, pp. 25-43.
- Ribas, G., Carbonell, E., Creus, A., Xamena, N., Marcos, R., 1997. Genotoxicity of humic acid in cultured human lymphocytes and its interaction with the herbicides alachlor and maleic hydrazine. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 29, 272-276.
- Ricci, D., Fraternali, D., Giamperi, L., Bucchini, A., Epifano, F., Burini, G., Curini, M., 2005. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 98, 195-200.
- Ricceri, C., Arrigoni, P.V., 2000. L'aggregato di *Portulaca oleracea* L. (Portulacaceae) in Italia. *Parlatorea* 4, 91-97.
- Rice, E.L., 1984. Allelopathy, second ed. Academic Press, Orlando, Florida.
- Rice, E.L., 1986. The Science of Allelopathy. Wiley, New York.
- Riemens, M.M., Dueck, T., Kempenaar, C., Lotz, L.A.P., Kropff, M.J.J., 2009. Sublethal effects of herbicides on the biomass and seed production of terrestrial

non-crop plant species, influenced by environment, development stage and assessment date. *Environmental Pollution* 157, 2306-2313.

Rivera, D., Obón, C., Inocencio, C., Heinrich, M., Verde, A., Fajardo, J., Llorach, R., 2005. The ethnobotanical study of local Mediterranean food plants as medicinal resources in Southern Spain. *Journal of Physiology and Pharmacology* 56, 97-114.

Rizvi, S.J.H., Rizvi, V., 1987. Improving crop productivity in India: Role of allelochemicals, en: Waller, G.R. (Ed.), *Allelochemicals: role in agriculture and forestry*. ACS Symposium Series 330. American Chemical Society, Washington DC, pp. 69-75.

Roberts, H.A., 1964. Emergence and longevity in cultivated soil of seed of some annual weeds. *Weed Research* 4, 296-307.

Roberts, H.A., Ricketts, M.E., 1979. Quantitative relationships between the weed-flora after cultivation and the seed population in the soil. *Weed Research* 19, 269-275.

Robles, C., Bousquet-Mélou, A., Garzino, S., Bonin, G., 2003. Comparison of essential oil composition of two varieties of *Cistus ladanifer*. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 339-343.

Rodrigues, M.R.A., Krause, L.C., Caramao, E.B., Dos Santos, J.G., Darive, C., De Oliveira, J.V., 2004. Chemical composition and extraction yield of the extract of *Origanum vulgare* obtained from sub- and supercritical CO₂. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 3042-3047.

Rolim de Almeida, L.F., Frei, F., Mancini, E., De Martino, L., De Feo, V., 2010. Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. *Molecules* 15, 4309-4323.

Roller, S., Ernest, N., Buckle, J., 2009. The antimicrobial activity of high-necrodane and other lavender oils on methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA). *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 15, 275-279.

Romeo, F.V., De Luca, S., Piscopo, A., Poiana, M., 2008. Antimicrobial effect of some essential oils. *Journal of Essential Oil Research* 20, 373-379.

Romero, M., Sorribas, M., 2007. Nuevo uso de florasulam en maíz. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal* 192, 27-31.

Rosado, L.D.S., Rodrigues, H.C.A., Pinto, J.E.B.P., Custódio, T.N., Pinto, L.B.B., Bertolucci, S.K.V., 2009. Alelopatia do extrato aquoso e do óleo essencial de folhas do manjericão “Maria Bonita” na germinação de alface, tomate e melissa. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu* 11, 422-428.

- Ross, I.A., 1999. Medicinal plants of the world. Chemical constituents, traditional and modern medical uses. Humana Press, New Jersey.
- Ruberto, G., Baratta, M.T., 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry* 68, 167-174.
- Ruberto, G., Biondi, D., 1992. The essential oil of Sicilian *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link. *Journal of Essential Oil Research* 4, 417-418.
- Ruiz de la Torre, J., 1981. Matorrales, en: Ramos, J.L. (Ed.), Vol. II Tratado del Medio Natural. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, pp. 501-541.
- Sage, R.F., Percy, R.W., 1987. The nitrogen use efficiency of C3 and C4 plants. II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.). *Plant Physiology* 84, 959-963.
- Sahid, I.B., Sugau, J.B., 1993. Allelopathic effect of Lantana (*Lantana camara*) and Siam weed (*Chromolaena odorata*) on selected crops. *Weed Science* 41, 303-308.
- Sahin, F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Agar, G., Ozer, H., 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control* 15, 549-557.
- Said, M., 1969. Hamdard Pharmacopoeia of Eastern Medicine. Hamdard National Foundation, Karachi, Pakistan.
- Saini, H.S., Bassi, P.K., Spencer, M.S., 1985a. Seed germination in *Chenopodium album* L. Relationship between nitrate and the effects of plant hormones. *Plant Physiology* 77, 940-943.
- Saini, H.S., Bassi, P.K., Spencer, M.S., 1985b. Seed germination in *Chenopodium album* L.: Further evidence for the dependence of the effects of growth regulators on nitrate availability. *Plant Cell and Environment* 8, 707-711.
- Sakai, N., Inada, K., Okamoto, M., Shizuri, Y., Fukuyama, Y., 1996. Portuloside A, a monoterpene glucoside from *Portulaca oleracea*. *Phytochemistry* 42, 1625-1628.
- Salamone, A., Lazzara, S., Verdeguer, M., Boira H., Blázquez, M.A., 2010. Antifungal and herbicidal activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Pelargonium odoratissimum* (L.) L'Hér. essential oils, en: Program and Abstracts 16th International Reinhardtsbrunn Symposium. Modern Fungicides and Antifungal Compounds, Friedrichroda (Alemania), 25-29 April 2010, p. 170.

- Salido, S., Altarejos, J., Nogueras, M., Sanchez, A., Luque, P., 2004. Chemical composition and seasonal variations of spike Lavender oil from Southern Spain. *Journal of Essential Oil Research* 16, 206-210.
- Salie, F., Eagles, P.F., Leng, H.M., 1996. Preliminary antimicrobial screening of four South African Asteraceae species. *Journal of Ethnopharmacology* 52, 27-33.
- Samy, J., Sugumaran, M., Lee, K.L.W., 2004. Herbs of Malaysia: an introduction to the medicinal, culinary, aromatic and cosmetic use of herbs. Times Edition, Kuala Lumpur, Malaysia.
- San Feliciano, A., Medarde, M., Poza, M.T., Del Corral, J.M.M., 1986. Artegallin, a sesquiterpene lactone from *Artemisia caerulescens* subsp. *gallica*. *Phytochemistry* 25, 1757-1759.
- Sardans, J., Rodà, F., Peñuelas, J., 2005. Effects of water and a nutrient pulse supply on *Rosmarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Environmental and Experimental Botany* 53, 1-11.
- Saroglou, V., Karioti, A., Demetzos, C., Dimas, K., Skaltsa, H., 2005. Sesquiterpene lactones from *Centaurea spinosa* and their antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Natural Products* 68, 1404-1407.
- Sasikumar, K., Vijayalakshmi, C., Parthiban, K.T., 2004. Allelopathic effects of four *Eucalyptus* species on cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Tropical Forest Science* 16, 419-428.
- Sauers, R.F., Levitt, G., 1984. Sulfonylureas: new high potency herbicides, en: Magee, P.S., Khon, G.K., Mean, J.J. (Eds.), Pesticide synthesis through rational approaches, ACS Symposium Series 255, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 21-28.
- Scarfato, P., Avallone, E., Lannelli, P., De Feo, V., Acierno, D., 2007. Synthesis and characterization of polyurea microcapsules containing essential oils with anti-germinative activity. *Journal of Applied Polymer Science* 105, 3568-3577.
- Schmutz, E., Freeman, B., Reed, R., 1968. The livestock poisoning plants of Arizona. University of Arizona Press, Tucson, AZ, USA.
- Schoch, W.H., Pawlik, B., Schavegruber, F.H., 1988. Botanische Makroreste. Paul Haupt, Berne.
- Schulz, H., Schrader, B., Quilitzsch, R., Pfeffer, S., Krüger, H., 2003. Rapid classification of basil chemotypes by various vibrational spectroscopy methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2475-2481

- Scrivanti, R.L., Zunino, M.P., Zygadlo, J.A., 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. *Biochemical Systematics and Ecology* 31, 563-572.
- Sefidkon, F., Assareh, M.H., Abravesh, Z., Mirza, M., 2006. Chemical composition of the essential oils of five cultivated *Eucalyptus* species in Iran: *E. intertexta*, *E. platypus*, *E. leucoxylon*, *E. sargentii* and *E. camaldulensis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 9, 245-250.
- Senatore, F., 1996. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (southern Italy). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 1327-1332.
- Setia, N., Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K., 2007. Phytotoxicity of volatile oil from *Eucalyptus citriodora* against some weedy species. *Journal of Environmental Biology* 28, 63-66.
- Shafique, S., Bajwa, R., Shafique, S., 2011. *Tagetes erectus* L.-A potential resolution for management of *Parthenium hysterophorus* L. *Pakistan Journal of Botany* 43, 885-894.
- Sharma, O.P., Makkar, H.P.S., Dawra, R.K., 1988. A review of the noxious plant *Lantana camara*. *Toxicon* 26, 975-987.
- Sharma, O.P., Singh, A., Sharma, S., 2000. Levels of lantadenes, bioactive pentacyclic triterpenoids in young and mature leaves of *Lantana camara* var. *aculeate*. *Fitoterapia* 71, 487-491.
- Sharma, G.R., Raghubanshi, A.S., Singh, J.S., 2005. *Lantana* invasion: an overview. *Weed Bioogy and Management* 5, 157-165.
- Shaukat, S.S., Munir, N., Siddiqui, I.A., 2003. Allelopathic responses of *Conyza canadensis* (L.) Cronquist: a cosmopolitan weed. *Asian Journal of Plant Sciences* 2, 1034-1039.
- Sicker, D., Hao, H., Schulz, M., 2004. Benzoxazolin-2(3H)-ones-generation, effects and detoxification in the competition among plants, en: Macias, F.A., Galindo, J.C.G., Molinillo, J.M.G., Cutler, H.G. (Eds.), *Allelopathy. Chemistry and mode of action of allelochemicals*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 77-102.
- Siegelman, H.W., 1964. Physiological studies on phenolic compounds, en: Harborne, J.B. (Ed.), *Biochemistry of phenolic compounds*. Academic Press, New York, pp. 437-456.
- Sigmund, W., 1924. Ueber die Einwirkung von Stoffwechsellendprodukten auf die Pflanzen. *Biochemische Zeitschrift* 146, 389-419.

- Sikkema, J., de Bont, J.A.M., Poolman, B., 1995. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews* 59, 201-222.
- Simon, J.E., Chadwick, A.F., Craker, L.E., 1984. Herbs: an indexed bibliography, 1971-1980. The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. Archon Books, Hamden, Connecticut.
- Simon, J.E., Charles, D., Cebert, E., Grant, L., Janick, J., Whipkey, A., 1990. *Artemisia annua* L.: a promising aromatic and medicinal, en: Janick, J., Simon, J.E. (Eds.), Advances in new crops. Timber Press, Portland, Orlando, pp. 522-526.
- Simon, J.E., Morales, M.R., Phippen, W.B., Vieira, R.F., Hao, Z., 1999. A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb, en: Janick, J. (Ed.), Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, Virginia, pp. 499-505.
- Simon-Fuentes, A., Sendra, J.M., Cuñat, P., 1987. Neutral volatiles of *Cistus ladaniferus* L. essential oil. *Anales de Química-Serie C* 83, 201-204.
- Simopoulos, A.P., 2004. Omega-3 fatty acids and antioxidants in edible wild plants. *Biological Research* 37, 263-277.
- Singh, G., Srivastava, K.P., Narayanan, C.S., Padmakumari, K.P., 1991. Chemical investigation of the essential oil of *Lantana camara*. *Indian Perfumer* 35, 209-211.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kaur, S., Arora, K., Kohli, R.K., 2006. α -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Annals of Botany* 98, 1261-1269.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kohli, R.K., 2002. Allelopathic effects of two volatile monoterpenes against bill-goat weed (*Ageratum conyzoides* L.). *Crop Protection* 21, 347-350.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Setia, N., Kohli, R.K., 2005. Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. *Annals of Applied Biology* 146, 89-94.
- Singh, K.P., 1973. Effect of temperature and light on seed germination of two ecotypes of *Portulaca oleracea* L. *New Phytologist* 72, 289-295.
- Singh, M., Tamma, R.V., Nigg, H.N., 1989. HPLC identification of allelopathic compounds from *Lantana camara*. *Journal of Chemical Ecology* 15, 81-89.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 1202-1205.

- Snogerup, S., 1971. Evolutionary and plant geographical aspects of Chasmophytic communities, en: Davis, P.H., Harper, P.C., Hedge, I.C. (Eds.), *Plant life of South-West Asia*. The Botanical Society, Edinburgh, pp. 157-170.
- Sorribas, M., Romero, M., Bernes, R., Larelle, D., 2006. Penoxsulam, el nuevo herbicida para el cultivo del arroz. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal* 182, 106-109.
- Sosa, T., Alías, J.C., Escudero, J.C., Chaves, N., 2005. Interpopulational variation in the flavonoid composition of *Cistus ladanifer* L. exudate. *Biochemical Systematics and Ecology* 33, 353-364.
- Soule, J., 1993. *Tagetes minuta*: A potential new herb from South America, en: Janick, J., Simon, J. E. (Eds.), *New Crops*. Wiley, New York, pp. 649-654.
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/v2-649.html#BOTANY>
- Spawn, R.L., Hoagland, K.D., Siegfried, B.D., 1997. Effects ofalachlor on an algal community from a midwestern agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 785-793.
- Srinivasan, K., 2005. Spices as influencers of body metabolism: an overview of three decades of research. *Food Research International* 38, 77-86.
- Steckel, L.E., Sprague, C.L., Stoller, E.W., Wax, L.M., 2004. Temperature effects on germination of nine *Amaranthus* species. *Weed Science* 52, 217-221.
- Stiles, L.H., Leather, G.R. y Chen, P.K., 1994. Effects of two sesquiterpene lactones isolated from *Artemisia annua* on physiology of *Lemna minor*. *Journal of Chemical Ecology* 20, 969-978.
- Stonard, R.J., Miller-Wideman, M.A., 1995. Herbicides and plant growth regulators, en: Godfrey, C.R.A. (Ed.), *Agrochemicals from natural products*. Marcel Dekker, New York, pp. 285-310.
- Strother, J.L., 1977. Tageteae-systematic review. Chapter 27, en: Heywood, V.H., Harborne, J.B., Turner, B.L. (Eds.), *The Biology and Chemistry of the Compositae* vol 2. Academic Press, London, UK.
- Strzelecka, H., Glinkowska, G., 1981. Studies on the chemistry of *Erigeron canadensis*. Part 1. *Herba Polonica* 27, 201-212.
- Stumvoll, S., Westritschnig, K., Lidholm, J., Spitzauer, S., Colombo, P., Duro, G., Kraft, D., Geraci, D., Valenta, R., 2003. Identification of cross-reactive and genuine *Parietaria judaica* pollen allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111, 974-979.

- Swiader, K., Lamer-Zarawska, E., 1996. Flavonoids of rare *Artemisia* species and their antifungal properties. *Fitoterapia* 67, 77-78.
- Tabaglio, V., Gavazzi, C., 2006. Effetti dei residui di segale sulle infestanti estive del mais. *Informatore Agrario* 62, 37-40.
- Tabaglio, V., Gavazzi, C., Schulz, M., Marocco, A., 2008. Alternative weed control using the allelopathic effect of natural benzoxazinoids from rye mulch. *Agronomy for Sustainable Development* 28, 397-401.
- Tan, R.X., Zheng, W.F., Tang, H.Q., 1998. Biologically active substances from the genus *Artemisia*. *Planta Medica* 64, 295-302.
- Tarayre, M., Thompson, J.D., Escarre, J., Linhart, Y.B., 1995. Intraspecific variation in the inhibitory effects of *Thymus vulgaris* (Labiatae) monoterpenes on seed germination. *Oecologia* 101, 110-118.
- Teasdale, J.R., Pillai, P., 2005. Contribution of ammonium to stimulation of smooth pigweed (*Amaranthus hybridus* L.) germination by extracts of hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) residue. *Weed Biology and Management* 5, 19-25.
- Teixeira da Silva, J.A., 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology* 3, 706-720.
- Tellez, M.R., Estell, R.E., Fredrickson, E.L., Havstad, K.M., 1997. Essential oil of *Dyssodia acerosa* DC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 3276-3278.
- Thebaud, C., Abbott, R.J., 1995. Characterization of invasive *Conyza* species (Asteraceae) in Europe: quantitative trait and isozyme analysis. *American Journal of Botany* 82, 360-368.
- Thiel, H., Kluth, C., Varrelmann, M., 2010. A new molecular method for the rapid detection of a metamitron-resistant target site in *Chenopodium album*. *Pest Management Science* 66, 1011-1017.
- Tholl, D., 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Current Opinion in Plant Biology* 9, 297-304.
- Thompson, J.D., Chalchat, J.C., Michet, A., Linhart, Y.B., Ehlers, B., 2003. Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology* 29, 859-880.
- Tilman, D., 1999. Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. Colloquium Paper. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 5995-6000.

- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671-677.
- Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., Schindler, D., Schlesinger, W.H., Simberloff, D., Swackhamer, D., 2001. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science* 292, 281-284.
- Tomkins, D.J., Grant, W.F., 1977. Effects of herbicides on species diversity of two plant communities. *Ecology* 58, 398-406.
- Torrell, M., Cerbah, M., Siljak-Yakovlev, S., Vallés, J., 2003. Molecular cytogenetics of the genus *Artemisia* (Asteraceae, Anthemideae): fluorochrome banding and fluorescence in situ hybridization. I. Subgenus *Seriphidium* and related taxa. *Plant Systematics and Evolution* 239, 141-153.
- Trader, B.W., Wilson, H.P., Hagood, E.S., Hines, T.E., 2009. Halosulfuron resistance in smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) populations. *Weed Technology* 23, 460-464.
- Troyer, J.R., 2001. In the beginning: the multiple discovery of the first hormone herbicides. *Weed Science* 49, 290-297.
- Tsiri, D., Kretsi, O., Chinou, I.B., Spyropoulos, C.G., 2003. Composition of fruit volatiles and annual changes in the volatiles of leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. growing in Greece. *Flavour and Fragrance Journal* 18, 244-247.
- Tucker, A.O., Maciarello, M.J., 1994. Oregano: botany, chemistry, and cultivation, en: Charlabous, G., (Ed.), Spices, herbs and edible fungi. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 439-456.
- Tucker, A.O., Maciarello, M.J., 1996. Volatile Leaf Oil of *Tagetes lemmonii* Gray. *Journal of Essential Oil Research* 8, 417-418.
- Türker, M., Battal, P., Agar, G., Güllüce, M., Sahin, F., Erez, M.E., Yildirim, N., 2008. Allelopathic effects of plant extract on physiological and cytological processes during maize seed germination. *Allelopathy Journal* 21, 237-286.
- Twirkoski, T., 2002. Herbicide effects of essential oils. *Weed Science* 50, 425-431.
- United Nations (UN), 2007. World Population Prospects: The 2006 Revision, vol. I, Comprehensive Tables. Population Division Department of Economic and Social Affairs. United Nations, New York, USA, pp. 118-120.
- Uphof, J.C., 1968. Dictionary of Economic Plants, second ed. Verlag von J. Cramer, New York.

- Uremis, I., Arslan, M., Sangun, M.K., 2009. Herbicidal activity of essential oils on the germination of some problem weeds. *Asian Journal of Chemistry* 21, 3199-3210.
- Van der Brand, W.G.M., 1987. Opkomstperiodiciteit bij een aantal eenjarige akkeronkruid soorten en enkele hiermee samenhangende onkruidbestrijdingsmaatregelen. *Gewasbescherming* 18, 39-45.
- Vasey, D.E., 1992. An ecological history of agriculture, 10.000 B.C.-A.D. 10.000. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Vasilakoglou, I., Dhima, K., Anastassopoulos, E., Lithourgidis, A., Gougoulis, N., Chouliaras, N., 2011. Oregano green manure for weed suppression in sustainable cotton and corn fields. *Weed Biology and Management* 11, 38-48.
- Vasilakoglou, I., Dhima, K., Wogiatzi, E., Eleftherohorinos, I., Lithourgidis, A., 2007. Herbicidal potential of essential oils of oregano or marjoram (*Origanum* spp.) and basil (*Ocimum basilicum*) on *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. and *Chenopodium album* L. weeds. *Allelopathy Journal* 20, 297-306.
- Vasudevan, P., Kashyap, S., Sharma, S., 1997. Tagetes: A multipurpose plant. *Bio-resource Technologie* 62, 29-35.
- Vaughn, S.F., Spencer, G.F., 1993. Volatile monoterpenes as potential parent structures for new herbicides. *Weed Science* 41, 114-119.
- Vera, R.R., Chane-Ming, J., 1999. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chemistry* 6, 143-145.
- Verdeguer, M., Blázquez, M.A., Boira, H., 2009. Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology* 37, 362-369.
- Verdeguer, M., García-Rellán, D., Boira, H., Pérez, E., Gandolfo, S., Blázquez, M.A., 2011. Herbicidal activity of *Peumus boldus* and *Drimys winterii* essential oils from Chile. *Molecules* 16, 403-411.
- Verma, R., Laiq, U., Amit, C.H., Anju, Y., Anand, S., Ajai, K., 2010. Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. *Journal of the Serbian Chemical Society* 75, 343-348.
- Viehoever, A., Capen, R.G., 1923. New sources of Santonin. *Journal of the American Chemical Society* 45, 1941-1944.

Villar, A., Calduch, M.L., Zafra-Polo, M.C., 1983. Essential oils from different *Artemisia* species. *Ars Pharmaceutica* 24, 149-159.

Vitousek, P.M., Mooney, H.A., Lubchenco, J., Melillo, J.M., 1997. Human domination of earth's ecosystems. *Science* 277, 494-499.

Vogt, T., Gülz, P.G., Reznik, H., 1991. UV radiation dependent flavonoid accumulation of *Cistus laurifolius* L. *Zeitschrift für Naturforschung C* 46, 37-42.

Vokou, D., Douvli, P., Blionis, G.J., Halley, J.M., 2003. Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. *Journal of Chemical Ecology* 29, 2281-2301.

Vokou, D., Kokkini, S., Bessiere, J.M., 1993. Geographic variation of Greek oregano (*Oreganum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology* 21, 287-295.

Vokou, D., Margaritis, N.S., 1986a. Autoallelopathy of *Thymus capitatus*. *Acta Oecologica* 7, 157-163.

Vokou, D., Margaritis, N.S., 1986b. Variation of volatile oil concentration of Mediterranean aromatic shrubs, *Thymus capitatus* Hoffmanns et Link, *Satureja thymbra* L., *Teucrium polium* L. and *Rosmarinus officinalis* L. *International Journal of Biometeorology* 30, 147-155.

Voznesenskaya, E.V., Koteyeva, N.K., Edwards, G.E., Ocampo, G., 2010. Revealing diversity in structural and biochemical forms of C4 photosynthesis and a C3-C4 intermediate in genus *Portulaca* L. (Portulacaceae). *Journal of Experimental Botany* 61, 3647-3662.

Vyvyan, J.R., 2002. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron* 58, 1631-1646.

Waller, G.R., 1989. Allelochemical action of some natural products, en: Chou, C.H., Waller, G.R. (Eds.), *Phytochemical Ecology: allelochemicals, mycotoxins and insect pheromones and allomones*. Institute of Botany, Academia Sinica Monograph Series No. 9, Taipei, Taiwan, pp. 129-154.

Walls, D., Smith, P.G., Mansell, M.G., 1996. Pesticides in groundwater in Britain. *International Journal of Environmental Health Research* 6, 55-62.

Walters, S.M., 1993. *Portulaca* L., en: Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (Eds.), *Flora Europaea* vol. 1, second ed. Cambridge University Press, Cambridge.

- Watkinson, A.R., Freckleton, R.P., Robinson, R.A., Sutherland, W.J., 2000. Predictions of biodiversity response to genetically modified herbicide-tolerant crops. *Science* 289, 1554-1557.
- Weaver, S.E., 2001. The biology of Canadian weeds. 115. *Conyza canadensis*. *Canadian Journal of Plant Science* 81, 867-875.
- Webster, T.M., 2002. Weed survey-southern states, vegetable, fruit, and nut crops subsection. *Proceedings Southern Weed Science Society* 55, 245-247.
- Weidenborner, M., Jha, H.C., 1993. Antifungal activity of flavonoids and their mixtures against different fungi occurring on grain. *Pesticide Science* 38, 347-356.
- Weisenburger, D.D., 1993. Human health effects of agrichemical use. *Human Pathology* 24, 571-576.
- Went, F.W., 1942. The dependence of annual plants on shrubs in Southern California deserts. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 69, 100-114.
- Wesseling, C., Aragón, A., Castillo, L., Corriols, M., Chaverri, F., De la Cruz, E., Keifer, M., Monge, P., Partanen, T., Ruepert, C., Van Wendel de Joode, B., 2003. Consideraciones sobre plaguicidas peligrosos en América Central. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* 68, 7-18.
- Westhoven, A.M., Kruger, G.R., Gerber, C.K., Stachler, J.M., Loux, M.M., Johnson, W.G., 2008. Characterization of selected common lambsquarters (*Chenopodium album*) biotypes with tolerance to glyphosate. *Weed Science* 56, 685-691.
- Weston, L.A., 1996. Utilization of allelopathy for weed management in agroecosystems. *Agronomy Journal* 88, 860-866.
- Westwood, C., 1993. Aromatherapy-A guide for home use. Amber wood Publishing Ltd., Rochester, UK.
- Weyerstahl, P., Marschall, H., Eckhardt, E., Christiansen, C., 1999. Constituents of commercial Brazilian lantana oil. *Flavour and Fragrance Journal* 14, 15-28.
- Whaley, C.M., Wilson H.P., Westwood, J.H., 2004. Characterization of a new ALS-inhibitor resistance mutation from the ALS gene of smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*). Abstract. *Weed Science Society of America* 44, 161.
- Whaley, C.M., Wilson, H.P., Westwood, J.H., 2006. ALS resistance in several smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*) biotypes. *Weed Science* 54, 828-832.
- Wiese, A.F., Salisbury, C.D., Bean, B.W., 1995. Downy brome (*Bromus tectorum*), jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) and horseweed (*Conyza canadensis*) control in fallow. *Weed Technologie* 9, 249-254.

Williams, J.T., 1963. Biological flora of the British Isles. *Chenopodium album* L. *Journal of Ecology* 51, 711-725.

Williams, J.T., Harper, J.L., 1965. Seed polymorphism and germination. I. The influence of nitrates and low temperatures on the germination of *Chenopodium album*. *Weed Research* 5, 141-150.

Williamson, G.B., Fischer, N.H., Richardson, D.R., De la Peña, A., 1989. Chemical inhibition of fire-prone grasses by fire-sensitive shrub, *Conradina canescens*. *Journal of Chemical Ecology* 15, 1567-1577.

Wittstock, U., Halkier, B.A., 2002. Glucosinolate research in the *Arabidopsis* era. *Trends in Plant Science* 7, 263-270.

Woerdenbag, H.J., Pras, N., Chan, N.G., Bang, B.T., Bos, R., Van Uden, W., Van Y, P., Van Boi, N., Batterman, S., Lugt, C.B., 1994. Artemisinin, related sesquiterpenes, and essential oil in *Artemisia annua* during a vegetative period in Vietnam. *Planta Medica* 60, 272-275.

World Health Organization (WHO), 1990. Public health impacts of pesticides used in agriculture. WHO in collaboration with the United Nations Environment Programme, Geneva.

World Health Organization (WHO), 2008. Dietary exposure assessment for chemicals in food. Report of the FAO/WHO Workshop, Annapolis, Maryland, USA, 2-6 May 2005, World Health Organization, Geneva.

World Health Organization (WHO), 2010. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009. World Health Organization, Geneva.

Worsham, A.D., 1989. Current and potential techniques using allelopathy as an aid in weed management, en: Chou, G.H., Waller, G.R. (Eds.), *Phytochemical ecology: allelochemicals, mycotoxins and insect pheromones and allomones*. Institute of Botany. Academia Sinica Monograph Series n°9, Taipei, Taiwan, ROC, pp. 275-291.

Yamane, A., Fujikura, J., Ogawa, H., Mizutani, J., 1992a. Isothiocyanates as allelopathic compounds from *Rorippa indica* Hiern. (Cruciferae) roots. *Journal of Chemical Ecology* 18, 1941-1954.

Yamane, A., Nishimura, H., Mizutani, J., 1992b. Allelopathy of yellow fieldcress (*Rorippa sylvestris*): identification and characterization of phytotoxic constituents. *Journal of Chemical Ecology* 18, 683-691.

- Yanishlieva, N.V., Marinova, E., Pokorny, J., 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology* 108, 776-793.
- Yano, K., 1987. Minor components from growing buds of *Artemisia capillaris* that act as insect antifeedants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35, 889-891.
- Yano K, Ishizu, T., 1994. Capillen, a seed germination inhibitor from *Artemisia capillaris* roots. *Phytochemistry* 37, 689-690.
- Yazici, I., Türkan, I., Sekmen, A.H., Demiral, T., 2007. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation, *Environmental and Experimental Botany* 61, 49-57.
- Yen, G.C., Chen, H.Y., Peng, H.H., 2001. Evaluation of the cytotoxicity, mutagenicity and antimutagenicity of emerging edible plants. *Food and Chemical Toxicology* 39, 1045-1053.
- Young, S.L., 2004. Natural product herbicides for control of annual vegetation along roadsides. *Weed Technology* 18, 580-587.
- Yun, K.W., Choi, S.K., 2003. Seasonal variation in allelopathic potential of *Artemisia princeps* var. *orientalis* on plants and microbes. *Journal of Plant Biology* 46, 105-110.
- Yun, K.W., Kil, B.S., 1992. Assessment of allelopathic potential in *Artemisia princeps* var. *orientalis* residues. *Journal of Chemical Ecology* 18, 1933-1940.
- Yun, K.W., Kil, B.S., Han, D.M., 1993. Phytotoxic and antimicrobial activity of volatile constituents of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Journal of Chemical Ecology* 19, 2757-2766.
- Zadoks, J.C., 1991. A hundred and more years of plant protection in the Netherlands. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 97, 3-24.
- Zamurenko, V.A., Kluyev, N.A., Grandberg, I.I., Dmitriev, L.B., 1981. Composition of the essential oil of lemon grass (*Cymbopogon citratus* DC.). *Izvestiya Timiryazevskoi Sel'skokhozyaistvennoi Akademii* 2, 167-169.
- Zdero, C., Bohlmann, F., Muller, M., 1987. Sesquiterpene lactones and other constituents from *Eriocephalus species*. *Phytochemistry* 26, 2763-2775.
- Zelaya, I.A., Owen, M.D.K., VanGessel, M.J., 2007. Transfer of glyphosate resistance: evidence of hybridization in *Conyza* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 94, 660-673.

Zhang, J., An, M., Wu, H., Stanton, R., Lemerle, D., 2010. Chemistry and bioactivity of *Eucalyptus* essential oils. *Allelopathy Journal* 25, 313-330.

Zheng, W., Wang, S.Y., 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5165-5170.

Ziska, L.H., Teramura, A.H., Sullivan, J.H., McCoy, A., 1993. Influence of ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic and growth characteristics in field-grown cassava (*Manihot esculentum* Crantz). *Plant, Cell and Environment* 16, 73-79.

Zobel, B., 1988. *Eucalyptus* in the forest industry. *Tappi Journals* 71, 42-46.

Zoubiri, S., Baaliouamer, A., 2011. GC and GC/MS analyses of the Algerian *Lantana camara* leaf essential oil: effect against *Sitophilus granarius* adults. *Journal of Saudi Chemical Society*. In press. doi:10.1016/j.jscs.2011.01.013

Zunino, M.P., Zygadlo, J.A., 2004. Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta* 219, 303-309.