



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

Estudio de las dosis óptimas de aplicación de dos  
formulados de los herbicidas naturales carvacrol y eugenol

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Bioambiental y del Paisaje

AUTOR/A: Capilla Pérez, Joan

Tutor/a: Boscaiu Neagu, Mónica Tereza

Cotutor/a: Verdeguer Sancho, Mercedes María

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALENCIA**

**MÁSTER EN INGENIERÍA AGRONÓMICA**



Estudio de las dosis óptimas de aplicación de dos formulados de los herbicidas naturales carvacrol y eugenol.

Trabajo Final de Máster

Autor: Joan Capilla Pérez.

Curso: 2023/2024.

Tutoras: Mercedes Verdeguer Sanchos.

Mónica Boscaiu Negre.

## RESUMEN

Las plantas arvenses representan un desafío significativo para los cultivos agrícolas, ya que compiten directamente por recursos esenciales como el agua, la luz y los nutrientes. Esta situación puede afectar negativamente al rendimiento de las cosechas. Además, estas plantas pueden servir como refugio de diversas plagas y patógenos. Por ello, es fundamental implementar un manejo eficaz de las plantas arvenses mediante una variedad de métodos de control, como prácticas culturales y métodos mecánicos, físicos, biológicos y químicos. Desde el descubrimiento de los herbicidas en 1940, el control químico ha sido el método predominante para el manejo de las arvenses debido a su efectividad y facilidad de aplicación. Sin embargo, su uso repetido y a gran escala ha generado una serie de problemas, incluyendo efectos negativos sobre la salud humana y daños al medio ambiente. Una aplicación continua de los herbicidas con el mismo modo de acción también puede inducir resistencia en muchas especies arvenses. Por lo tanto, se impone la necesidad de adoptar métodos más sostenibles y diversificados.

La Directiva 2009/128/CE del Parlamento y Consejo Europeo establece un marco comunitario para promover el uso sostenible de los plaguicidas en la agricultura. Esta normativa impulsa la adopción de estrategias de gestión integrada de plagas, así como el empleo de métodos alternativos que reduzcan la dependencia con los herbicidas convencionales. La creciente demanda de soluciones más sostenibles para la protección de cultivos ha llevado a buscar enfoques innovadores, como los bioherbicidas y otros compuestos de origen natural, que minimicen el impacto ambiental y contribuyen a una agricultura más ecológica y responsable.

Este trabajo se realizó en colaboración con Seipasa, empresa especializada en la investigación y desarrollo de productos naturales para el control de plagas. El objetivo propuesto es analizar los efectos generados por dos compuestos naturales con una determinada formulación para el control de dos especies arvenses, *Lolium rigidum* y *Sonchus oleraceus*. Los compuestos naturales proporcionados por Seipasa fueron carvacrol y eugenol formulados. El seguimiento de los tratamientos en cada especie se realizó durante un periodo de 30 días a partir del momento de su aplicación. Durante este periodo, se evaluaron tanto la eficacia de los tratamientos como el nivel de daño causado en las plantas. Al finalizar los 30 días, se muestrearon las plantas utilizadas en el ensayo para medir parámetros clave, como el peso fresco y seco, así como la longitud total de cada planta, permitiendo así una evaluación detallada del impacto del tratamiento.

El análisis estadístico del conjunto de los datos indicó que el carvacrol formulado es un compuesto mucho más eficaz, destacando la dosis de 30 µl, que el eugenol formulado en ambas plantas arvenses.

**Palabras clave:** plantas arvenses, bioherbicidas, eficacia, carvacrol, eugenol.

## RESUM

Les plantes arvenses representen un desafiament significatiu per als cultius agrícoles, ja que competixen directament per recursos essencials com l'aigua, la llum i els nutrients. Esta situació pot afectar negativament el rendiment de les collites. A més, estes plantes podens servir com a refugi de diverses plagues i patògens. Per això, és fonamental implementar un maneig eficaç de les plantes arvenses mitjançant una varietat de mètodes de control, com pràctiques culturals i mètodes mecànics, físics, biològics i químics. Des del descobriment dels herbicides en 1940, el control químic ha sigut el mètode predominant per al maneig de les arvenses a causa de la seua efectivitat i facilitat d'aplicació. No obstant això, el seu ús repetit i a gran escala ha generat una sèrie de problemes, incloent-hi efectes negatius sobre la salut humana i danys al medi ambient. Una aplicació continua dels herbicides amb el mateix mode d'acció també pot induir resistència en moltes espècies arvenses. Per tant, s'imposa la necessitat d'adoptar mètodes més sostenibles i diversificats.

La Directiva 2009/128/CE del Parlament i Consell Europeu estableix un marc comunitari per a promoure l'ús sostenible dels plaguicides en la agricultura. Esta normativa impulsa l'adopció d'estratègies de gestió integrada de plagues, així com l'ús de mètodes alternatius que reduïsquen la dependència amb els herbicides tradicionals. La creixent demanda de solucions més sostenibles per a la protecció dels cultius ha portat a buscar enfocaments innovadors, com els bioherbicides i altres compostos d'origen natural, que minimitzen l'impacte ambiental i contribuïxen a una agricultura més ecològica i responsable.

Este treball es va realitzar en col·laboració amb Seipasa, empresa especialitzada en la investigació i desenvolupament de productes naturals per al control de plagues. L'objectiu proposat és analitzar els efectes generats per dos compostos naturals amb una determinada formulació per al control de dos espècies arvenses, *Lolium rigidum* i *Sonchus oleraceus*. Els compostos naturals proporcionats per Seipasa van ser carvacrol i eugenol formulats. El seguiment dels tractaments en cada espècie es va realitzar durant un període de 30 dies a partir del moment de la seua aplicació. Durant este període, es van avaluar tant l'eficàcia dels tractaments com el nivell de mal causat en les plantes. En finalitzar els 30 dies, es van mostrejar les plantes utilitzades en l'assaig per a mesurar paràmetres clau, com el pes fresc i sec, així com la longitud total de cada planta, permetent així una avaluació detallada de l'impacte del tractament.

L'anàlisi estadística del conjunt de les dades va indicar que el carvacrol formulat és un compost molt més eficaç, destacant la dosi de 30 µl, que el eugenol formulat en totes dues plantes arvenses.

**Paraules claus:** plantes arvenses, bioherbicides, eficàcia, carvacrol, eugenol.

## **ABSTRACT:**

Weedy plants represent a significant challenge to agricultural crops, as they compete directly for essential resources such as water, light and nutrients. This situation can negatively affect crop yields. In addition, these plants can serve as a refuge for various pests and pathogens. Therefore, it is essential to implement effective management of weeds through a variety of control methods, such as cultural practices and mechanical, physical, biological and chemical methods. Since the discovery of herbicides in 1940, chemical control has been the predominant method of weed management due to its effectiveness and ease of application. However, their repeated and large-scale use has generated a number of problems, including negative effects on human health and damage to the environment. Continuous application of herbicides with the same mode of action can also induce resistance in many weed species. Therefore, there is a need to adopt more sustainable and diversified methods.

Directive 2009/128/EC of the European Parliament and Council establishes a Community framework to promote the sustainable use of pesticides in agriculture. This legislation encourages the adoption of integrated pest management strategies, as well as the use of alternative methods that reduce dependence on conventional herbicides. The growing demand for more sustainable solutions for crop protection has led to the search for innovative approaches, such as bioherbicides and other compounds of natural origin, which minimize environmental impact and contribute to a more environmentally friendly and responsible agriculture.

This work was carried out in collaboration with Seipasa, a company specialized in the research and development of natural products for pest control. The proposed objective is to analyze the effects generated by two natural compounds with a given formulation for the control of two weed species, *Lolium rigidum* and *Sonchus oleraceus*. The natural compounds provided by Seipasa were formulated carvacrol and eugenol. The monitoring of the treatments on each species was carried out for a period of 30 days from the time of application. During this period, both the efficacy of the treatments and the level of damage caused to the plants were evaluated. At the end of the 30 days, the plants used in the trial were sampled to measure key parameters, such as fresh and dry weight, as well as the total length of each plant, thus allowing a detailed evaluation of the impact of the treatment.

Statistical analysis of the data set indicated that the formulated carvacrol is a much more effective compound, especially at the 30  $\mu$ l dose, than the formulated eugenol on both weed plants.

**Key words:** weed plants, bioherbicides, efficacy, carvacrol, eugenol

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	7
1.1. Las plantas arvenses y su impacto sobre los cultivos. ....	7
1.1.1. Especies arvenses ensayadas en el presente trabajo. ....	8
1.2. Métodos para el control de las plantas arvenses.....	9
1.3. Herbicidas y su impacto ambiental .....	11
1.4. Compuestos naturales como herbicidas.....	12
1.4.1. Carvacrol.....	12
1.4.2. Eugenol.....	13
2. OBJETIVOS. ....	13
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
3.1. Emplazamiento, diseño de tratamiento y condiciones ambientales. ....	14
3.2. Preparación del ensayo.....	15
3.3. Compuestos naturales. ....	16
3.4. Aplicación de tratamientos y seguimiento.....	16
3.5. Valoración de la eficacia y el nivel de daño.....	16
3.6. Determinación del peso seco y el fresco. ....	17
3.7. Determinación de la longitud de las plantas.....	18
3.8. Análisis estadístico. ....	18
4. RESULTADOS. ....	18
4.1. Resultados en <i>Lolium rigidum</i> . ....	18
4.2. Resultados en <i>Sonchus oleraceus</i> . ....	24
5. DISCUSIÓN.....	29
6. CONCLUSIÓN. ....	30
7. BIBLIOGRAFÍA.....	31
Anejo I: Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030. ....	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Lolium rigidum; Pliego de herbario (A); Planta en campo (B). Fuente: Herbari Virtual del Mediterrani Occidental, 2019. ....	8
Figura 2: Sonchus oleraceus. Fuente: CABI Compendium.....	9
Figura 3: Estructura química del carvacrol. Fuente: Nation Library of Medicine .....	13
Figura 4: Estructura química del eugenol. Fuente: Nation Library of Medicine.....	13
Figura 5: Semillero de Lolium rigidum; Primer día del ensayo (A); Momento del trasplante a macetas para los tratamientos (B). ....	16
Figura 6: Diferentes niveles de daño desde el nivel 0 al nivel 3 en Lolium rigidum a los 30 días de la aplicación de los tratamientos. ....	17
Figura 7: Muestra de Lolium rigidum durante la toma de datos de peso fresco (A) y la toma de datos del peso seco para Sonchus oleraceus (B).....	17
Figura 8: Muestras de la dosis de carvacrol formulado 9 µl de Lolium rigidum a los 30 días de la aplicación de los tratamientos (final del ensayo). ....	18
Figura 9: Eficacia de los tratamientos en Lolium rigidum a varios días después del inicio del tratamiento: a los 7 días (A); a los 15 días (B); a 30 (C). ....	19
Figura 10: Nivel de daño en Lolium rigidum en función del tipo de tratamiento y los días transcurridos tras la aplicación de los tratamientos (DAT): 1 DAT (A); 3 DAT (B); 7 DAT (C); 15 DAT (D); 30 DAT (E). ....	21
Figura 11: Curva dosis respuesta de carvacrol formulado en Lolium rigidum. ....	23
Figura 12: Curva dosis respuesta de eugenol formulado en Lolium rigidum. ....	24
Figura 13: Eficacia de los tratamientos en Sonchus oleraceus a varios días después del inicio del tratamiento: a los 3 días después de tratamiento (A); a los 7 días (B); a 15 días (C); a 30 días (D). ...	25
Figura 14: Nivel de daño en Lolium rigidum en función del tipo de tratamiento y los días transcurridos tras la aplicación de los tratamientos (DAT): 1 DAT (A); 3 DAT (B); 7 DAT (C); 15 DAT (D); 30 DAT (E). ....	26
Figura 15: Curva dosis respuesta de carvacrol formulado de Sonchus oleraceus.....	28

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tratamientos y dosis aplicados en Lolium rigidum. ....	14
Tabla 2: Tratamientos y dosis aplicadas en Sonchus oleraceus.....	15
Tabla 3: Condiciones climáticas en los ensayos con Lolium rigidum.....	15
Tabla 4: Condiciones climáticas en los ensayos con Sonchus oleraceus. ....	15
Tabla 5: ANOVA multifactorial de la eficacia y nivel de daño de Lolium rigidum en función del tiempo después de la aplicación y tipo de tratamiento. ....	21
Tabla 6: Peso fresco, peso seco y longitud de las plantas de Lolium rigidum de los diferentes tratamientos estudiados al final del ensayo.....	22
Tabla 7: ANOVA multifactorial de la eficacia y nivel de daño de Sonchus oleraceus en función del tiempo después de la aplicación y tipo de tratamiento. ....	27
Tabla 8: Peso fresco (g), peso seco (g) y longitud (cm) de las plantas de Sonchus oleraceus de los diferentes tratamientos estudiados al final del ensayo. ....	27

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Las plantas arvenses y su impacto sobre los cultivos.

Se considera malas hierbas aquellas plantas que se desarrollan en espacios alterados por el ser humano y que resultan indeseables para el mismo en un lugar y momento determinado. Esta definición fue dada por Pujadas y Hernández Bermejo (1988). Hay que tener en cuenta que el concepto es muy relativo. Por tanto, considerar una planta como deseable o no, varía en función de diversas razones, según el lugar y el momento concreto. En otras palabras, una planta puede ser indeseable en determinadas condiciones, mientras que en otras no lo es.

Respecto a otras definiciones del concepto de plantas arvenses, la Sociedad Española de Malherbología (SEMh) define como *“Cualquier planta que interfiere con los objetivos y la necesidad del hombre”*. Asimismo, Baker (1974) explica que una especie, independientemente de las condiciones específicas del lugar, se considera como arvense cuando se desarrolla de forma parcial o total en áreas perturbadas por las acciones humanas. Otra definición relevante es la de Zimmerman (1976) que explica este tipo de plantas son aquellas que colonizan espacios alterados, que no son un componente habitual en el área geográfica natural donde se desarrollan, que son abundantes, nocivas, problemáticas o destructivas y no tienen ningún valor económico

Sin embargo, las plantas arvenses pueden tener tanto efectos positivos como negativos en el ecosistema agrícola. Tradicionalmente, se han considerado como un inconveniente para los cultivos, ya que interfieren con la actividad agrícola y generan diferentes impactos negativos. Estas plantas se caracterizan por su competencia por los recursos naturales como la luz, el agua o nutrientes del propio suelo. Esto genera una reducción del rendimiento para los cultivos. Asimismo, su eliminación, sobre todo en cultivos herbáceos, incrementan los costes de producción (Ubillos, 2000). Pueden presentar una tasa de reproducción más alta comparada con el cultivo, por un mayor tamaño de las raíces o mayor resistencia a sequías o inundaciones. Por lo tanto, el cultivo ve mermado su crecimiento al no tener recursos disponibles que han sido extraídos por la planta arvense (Kubiak et al., 2022).

En los últimos años el interés por la protección de la biodiversidad ha incrementado de forma considerable. Diversos estudios muestran que la presencia de plantas arvenses son fuente de alimentos para diferentes especies de insectos. Aunque algunas sean plagas, otras son depredadores naturales o parásitos que ayudan al control biológico. Además, las arvenses proporcionan cobertura al suelo dando protección contra la erosión, particularmente tras la recolección y en los cultivos permanentes. Hay que tener en cuenta que una eliminación completa puede provocar que los insectos ataquen el cultivo al no tener otra fuente de alimentos (Sans Serra, 2016).

Por lo tanto, es necesario llevar a cabo un manejo y control de las arvenses para evitar que perjudiquen al desarrollo del cultivo, sin llegar a su desaparición, por los diferentes beneficios que presentan.

### 1.1.1. Especies arvenses ensayadas en el presente trabajo.

En el presente trabajo se han estudiado dos especies de plantas arvenses, una especie monocotiledónea, *Lolium rigidum* Gaud. (Poaceae) y otra dicotiledónea *Sonchus oleraceus* L. (Asteraceae).

El género *Lolium* L. incluye 8 especies eurasiáticas, una de ellas siendo *L. rigidum*, la especie estudiada en este trabajo, común en la Península Ibérica. al estar adaptada al clima mediterráneo o subtropical y, en menor medida a climas templados. Se puede desarrollar en diferentes tipos de suelo y se caracteriza por su gran variabilidad genética y plasticidad fenotípica, es decir, la propiedad de un genotipo de producir diferentes fenotipos en diferentes condiciones ambientales. Por lo tanto, las plantas de esta especie se pueden adaptar rápidamente a distintas condiciones climáticas o edáficas (Inda Aramendia, 2005). *L. rigidum* es una gramínea muy común en los cultivos de cereales, como el arroz, llegando a producir infestaciones muy importantes que provocan el ahogamiento del cereal. Esta planta está presente en todo tipo de hábitats tanto en zonas cultivadas como bordes de caminos, zonas alteradas por el ser humano, pastos, etc. (MAAMA2015).

*L. rigidum* es una especie de ciclo anual. La germinación de las semillas de *L. rigidum* se produce en un amplio rango de temperaturas desde los 7°C a los 32°C (rango óptimo entre 10-15°C) (MAAMA2015). Dicho proceso puede incrementarse debido a las lluvias del otoño, estableciéndose antes de que el suelo se seque. Asimismo, se caracteriza por la alta latencia de las semillas cuando se desarrollan en zona cultivada. Esto permite evitar ciertos tipos de control de plantas arvenses (Beckie & Jasieniuk, 2021).

Respecto a su morfología, las espigas se caracterizan por ser largas y finas. Las espiguillas se ubican muy unidas al tallo. Su propio nombre indica que el raquis de la espiga es bastante rígido a diferencia de especies del mismo género como la *L. perenne* que presenta un raquis flexible. La planta adulta se caracteriza por ser erectas y conseguir una altura aproximada de 9 cm. Las inflorescencias son planas y pueden llegar hasta 0,3 cm de longitud. Las espiguillas presentan de 3 a 9 flores (Beckie y Jasieniuk, 2021).



Figura 1: *Lolium rigidum*; Pliego de herbario (A); Planta en campo (B). Fuente: Herbari Virtual del Mediterrani Occidental, 2019.

El género *Sonchus* L incluye un gran número de taxones, entre cuales varias especies arvenses como *Sonchus oleraceus*, *S. bulbosus*, *S. asper*, *S. aqualitis* o *S. tenerrimus*. En este trabajo, se ha analizado la especie *Sonchus oleraceus*, con el nombre común en castellano de cerraja o lechuguilla. Esta especie puede crecer en diferentes condiciones climáticas. en hábitats muy variados como dunas, áreas quemadas o aquellas zonas alteradas por el ser humano como bordes de camino o zonas cultivadas. El principal problema que genera la presencia de esta planta es que puede albergar plagas como pulgones o vectores de enfermedades como el virus del mosaico de la sandía (Rojas-Sandoval et al., 2014).



Figura 2: *Sonchus oleraceus*. Fuente: CABI Compendium.

*S. oleraceus* puede ser anual o bianual, llegando a alcanzar los 40-150 cm en altura. Respecto a su germinación, se produce en un rango de temperaturas bastante amplio (desde los 7°C a los 35 °C) (Peralta de Andrés y Royuela Hernando, 2018). Por lo tanto, la especie puede crecer en diferentes ambientes, pero necesita lugares húmedos para el desarrollo óptimo. Cuando la planta se empieza a desarrollar, presenta unos cotiledones ovales, cortamente peciolados, las hojas verdaderas siendo dentadas y espinosas. La planta adulta presenta capítulos de flores amarillas con estigmas verdosos. Los frutos son aquenios comprimidos con tres costillas en cada cara y vilano formado por pelos blancos (Peralta de Andrés y Royuela Hernando, 2018).

## 1.2. Métodos para el control de las plantas arvenses

Los métodos de control para las malas hierbas se pueden dividir en 2 grupos principales, indirectos y directos. Los métodos indirectos, también llamados preventivos, se refieren a medidas realizadas antes de la siembra del cultivo con el objetivo de reducir el número de malas hierbas que emergen en un cultivo. Existen diferentes tipos de métodos preventivos. A continuación, se explican algunos de los métodos más importantes:

- **Rotación de cultivos:** esta práctica consiste en alternar cultivos de diferentes especies de forma secuencial en un mismo lugar con el objetivo de regular el suelo para mantener unas condiciones óptimas y el control de las malas hierbas. Respecto al control, al tener diferentes cultivos estos requieren diferentes prácticas culturales las cuales actúan como un factor disruptivo en el ciclo de desarrollo de las malezas, impidiendo que las malas hierbas se desarrollen. Asimismo, algunas malas hierbas pueden afectar a unos cultivos, pero a otros no. Por lo tanto, al realizar el cambio de especie generan condiciones negativas para el desarrollo de dichas plantas (González Ponce, 2006).
- **Semillas no contaminadas:** el uso de semillas limpias y puras certificadas permite evitar la aparición de especies indeseables (Ubillos, 2000).

- **Limpieza de equipo:** la maquinaria puede llevar semillas de las malas hierbas. Por lo tanto, es indispensable su limpieza para el control de malas hierbas (González Ponce, 2006).
- **Abonos verdes:** son plantas cultivadas que se incorporan al suelo, generalmente en su etapa de floración, con el objetivo de mejorar las condiciones agronómicas situándose entre las hileras de plantaciones (Guzmán Casado y Alonso Mielgo, 2008). Ayuda al control de las plantas arvenses por su crecimiento rápido y generan una cobertura vegetal que impide el desarrollo de estas. Además, sirve como protección para la erosión del suelo durante procesos de escorrentía y mejora la estructura de este por la acción mecánica de sus raíces (Guanche García, 2012).

Por otra parte, existe el grupo de medidas que actúan como método de control directo sobre las malas hierbas durante el ciclo de crecimiento del cultivo. Estos se conocen como métodos directos. En dicho grupo, se identifican 4 subgrupos de medidas.

- **Métodos físicos:** el objetivo consiste en evitar la germinación o crecimiento de las malas hierbas mediante altas temperaturas (quemados o intenso calor) o barreras físicas. Por lo tanto, existen diferentes medidas. A continuación, alguna de las prácticas más utilizadas:
  - **Quema de rastrojos:** medida sencilla de realizar y económica que consiste en utilizar fuego para eliminar las plantas arvenses. Esta práctica se ha ido limitando por el riesgo que tiene para generar incendios cuando se realiza de forma incorrecta o en condiciones inadecuadas.
  - **Solarización:** consiste en un método térmico para el control de las plantas arvenses cubriendo la zona de cultivo con una capa de plástico. Se riega con agua por debajo de dicha capa para alcanzar altas temperaturas con el objetivo de desinfectar las semillas.
  - **Coberturas:** misma función que solarización, pero se aplica otros materiales como paja o cortezas de árboles (González Ponce, 2006).
- **Métodos mecánicos:** métodos tradicionales por medios mecánicos con el objetivo de fragmentar, arrancar o cortar las malas hierbas. Algunas de estas prácticas se denominan laboreo, siega o escarda manual que utilizan funciones mecánicas sencillas para eliminar la flora arvense. El laboreo consiste en acciones mecánicas simples que remueven el suelo. Por otra parte, la siega que se realiza de forma directa sobre las primeras etapas de crecimiento de la planta arvense (González Ponce, 2006). Con el avance de la tecnología, estos métodos se han modernizado progresivamente consiguiendo un control más preciso y eficiente en comparación a los métodos tradicionales. Por ejemplo, un disco rotativo controlado por sistema de visión que tiene un equipo inteligente permite un control selectivo de las malas hierbas y un daño mínimo sobre el cultivo (Tillett et al., 2007).
- **Métodos químicos:** consisten en el uso de productos químicos, herbicidas o plaguicidas, para el control de las malas hierbas. Es uno de los métodos más utilizados por su eficacia y su facilidad de uso. Sin embargo, tiene un impacto negativo muy importante sobre el medioambiente cuando se aplican de forma indebida o en exceso (Ubillas, 2000). Estos métodos pueden combinarse con métodos biológicos para llevar a cabo una producción integrada. De acuerdo con el Real Decreto 1201/2002, la producción integrada se define como un conjunto de sistemas agrícolas que optimizan el uso de los recursos y mecanismos naturales de producción, garantizando una agricultura sostenible a largo plazo. Todo esto se logra mediante la utilización conjunta de métodos químicos y biológicos, buscando el equilibrio

entre las necesidades de la sociedad, la protección al medio ambiente y la productividad agrícola.

- **Métodos biológicos:** se basan en el uso de factores bióticos del medio. Estas prácticas han ganado popularidad debido a su bajo impacto ambiental y su influencia positiva sobre el ecosistema. Por ejemplo, el uso de productos naturales vegetales que tienen efectos alelopáticos emitiendo unos fotoquímicos que impiden el crecimiento de las malas hierbas. Otro método es la utilización de animales herbívoros a través del pastoreo para evitar la infestación de las plantas arvenses en el suelo (González Ponce, 2006). Las cubiertas vegetales también son un método para el control de estas plantas, ya que si seleccionan de forma correcta pueden competir por los recursos y oprimir el crecimiento de la planta arvense. Este método se ha demostrado para el control en viñedo de *Cynodon dactylon* (Valencia et al., 2018).

### 1.3. Herbicidas y su impacto ambiental

El empleo de los herbicidas ha sido una práctica habitual para controlar el crecimiento de las malas hierbas y asegurar la productividad del cultivo. No obstante, este uso conlleva importantes repercusiones ambientales. Los herbicidas, al ser aplicados en los campos agrícolas, pueden causar efectos negativos en los ecosistemas cercanos y a la salud humana. Dada la creciente preocupación por el medio ambiente y la necesidad de reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, es crucial entender estos impactos para fomentar prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el entorno.

El uso intensivo de los herbicidas puede resultar en la percolación de estos compuestos a través del suelo, alcanzando masas de agua como los acuíferos. Debido a su toxicidad, los herbicidas tienen el potencial de causar la extinción de fauna y flora presentes en los ecosistemas acuáticos. Además, el suelo puede sufrir impactos negativos. La acumulación de herbicidas en el suelo, especialmente cuando sus concentraciones exceden la capacidad de absorción de este, puede conducir a la pérdida de algunas de sus propiedades. Un ejemplo de ello es la reducción de materia orgánica, lo que conlleva a una pérdida de fertilidad del suelo. Asimismo, la actividad microbiana puede disminuir en función de la toxicidad del herbicida empleado (El Jaouhari et al., 2023).

Respecto a las emisiones de efecto invernadero, los herbicidas tienen un papel muy importante. Contribuyen al cambio climático a lo largo de su ciclo de vida a través de la fabricación, envasado, transporte, aplicación e incluso mediante la degradación ambiental y su posterior eliminación. La mayoría de los herbicidas, provienen de combustibles fósiles. Además, después de su aplicación siguen emitiendo gases como el óxido nitroso en el suelo (Spokas y Wang, 2003).

La Unión Europea ha impulsado en los últimos años la adopción de prácticas sostenibles con el uso de fitosanitarios, así como la implementación de la gestión integrada de plagas, a través de la Directiva 2009/128/CE. Además, se anticipa una reducción aún mayor en el uso de estos productos en los próximos años, conforme a lo establecido en la estrategia “De la granja a la mesa”, que forma parte del Pacto Verde Europeo, presentada el 19 de octubre de 2020.

Estas políticas han incentivado la investigación y el desarrollo de diversas prácticas sostenibles con el fin de disminuir el uso de herbicidas convencionales. Entre las estrategias más destacadas se encuentra el desarrollo de bioherbicidas, que representan una alternativa más ecológica, utilizando componentes biológicos para el control de malas hierbas sin los efectos perjudiciales asociados a los herbicidas químicos tradicionales.

#### 1.4. Compuestos naturales como herbicidas.

Los bioherbicidas se definen como productos de control cuyo origen es derivado de organismos vivos, incluyendo cualquier producto natural que ellos producen durante su crecimiento. La mayor parte de los bioherbicidas son de origen microbiano (bacteria o hongos) o productos derivados de las plantas o minerales. Los métodos de aplicación y las situaciones de uso son muy similares a los herbicidas convencionales (Bailey, 2014). Estos se caracterizan por:

- **Especificidad del huésped:** puede ser muy específico o actuar en un amplio espectro, en función de la mala hierba y circunstancias (Bailey, 2014).
- **Tolerancia del cultivo:** no genera efectos negativos sobre el cultivo u otras plantas de la zona de tratamiento (Bailey, 2014).
- **Eficacia:** se determina si es eficaz según la mortalidad, biomasa, germinación de semillas, crecimiento de raíces y síntomas morfológicos. Los bioherbicidas son efectivos, pero no están diseñados para ser utilizados de forma aislada. Su eficacia se maximiza cuando se integran en el manejo integrado de plantas arvenses teniendo en cuenta diversas prácticas culturales y agronómicas (Hasan et al., 2021).
- **Modo de acción:** puede actuar de distintos modos. Estos pueden tener un origen físico o químico como degradación enzimática, producción de toxinas o reguladores de crecimiento (Bailey, 2014).
- **Grado de toxicidad:** baja toxicidad, ya que para su uso se requiere una serie de controles para garantizar un bajo nivel de este parámetro (Bailey, 2014).
- **Destino medioambiental:** no permanecen activos en el medio ambiente durante periodos largos de tiempo. Por lo tanto, tienen menos probabilidad de contaminar el suelo, el agua y afectar a aquellos organismos no objetivos (Hasan et al., 2021).

Estos productos generan diversos efectos sobre el crecimiento de las plantas arvenses. Los bioherbicidas pueden inhibir la germinación de la semilla bloqueando la hidrólisis de las reservas de nutrientes y la división celular. Las sustancias fitotóxicas presente en los productos naturales pueden afectar a los genes responsables de la caracterización celular de tejidos radiculares y del endospermo, inhibiendo el crecimiento de las raíces. Un ejemplo de gen afectado es WOX5 que es uno de los responsables del mantenimiento de las células madre en la raíz. Además, la aplicación de estos productos también afecta a la fotosíntesis de las plantas arvenses reduciendo compuestos esenciales para la síntesis de clorofila como el magnesio (Hasan et al., 2021).

##### 1.4.1. Carvacrol.

Uno de los compuestos naturales que se ha seleccionado para este experimento ha sido el carvacrol, un monoterpeno fenólico que forma parte de los aceites esenciales. Dichos aceites esenciales, se pueden obtener de diferentes especies de la familia de las Lamiaceae. El carvacrol se emplea en el control de enfermedades en cultivos por sus propiedades antimicrobianas. Diferentes estudios han demostrado que el carvacrol tiene un modo de acción que produce la alteración de las membranas. Una alta exposición y una elevada concentración resulta en una fitotoxicidad muy grave provocando la reducción del crecimiento de las malas hierbas. Este se caracteriza por actuar de forma rápida y tener una eficacia elevada (Muñoz et al., 2020).

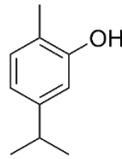


Figura 3: Estructura química del carvacrol. Fuente: Nation Library of Medicine

#### 1.4.2. Eugenol.

El otro compuesto seleccionado ha sido el eugenol, un compuesto natural que pertenece al grupo de fenoles, obtenido a partir de aceites naturales extraídos de plantas de las familias Lamiaceae y Lauraceae, entre otras. Es uno de los compuestos más importante del aceite de clavo. Respecto a sus características, presenta una solubilidad baja en agua y alta solubilidad en disolventes orgánicos. Se puede obtener de dos formas, mediante una producción sintética o por métodos biotecnológicos que consiste en la biotransformación de varios microorganismos, incluyendo especies como *Corynebacterium* spp., *Streptomyces* spp. y *Escherichia* spp. El eugenol se caracteriza por presentar múltiples propiedades. Las más importantes son su capacidad antiinflamatoria, su propiedad anticancerígena y antioxidante (Ulanowska y Olas, 2021).

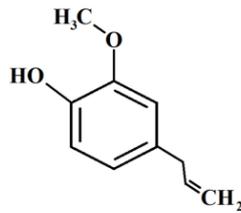


Figura 4: Estructura química del eugenol. Fuente: Nation Library of Medicine.

En este trabajo se ha incluido el eugenol para analizar su efecto como bioherbicida en malas hierbas. Estudios previos indican que puede actuar como agente de control para plantas no deseadas. Este genera una germinación de la semilla tardía y una supresión del crecimiento de la plántula (Muñoz et al., 2020). Cabe destacar que este compuesto natural no persiste en el agua fresca y se degrada en suelo por el grupo de bacterias *Pseudomonas* (Ahuja et al., 2015a).

## 2. OBJETIVOS.

El objetivo principal del trabajo ha sido analizar los efectos fitotóxicos de dos formulados bioherbicidas, a base de carvacrol y eugenol, para el control de plantas arvenses. Para ello se estudió su actividad herbicida sobre dos especies arvenses modelo, *Lolium rigidum*, para especies monocotiledóneas y *Sonchus oleraceus* para especies dicotiledóneas. Los bioherbicidas fueron formulados y proporcionados por la empresa Seipasa.

La utilización de los bioherbicidas que provienen de compuestos naturales son una de las múltiples medidas para conseguir los Objetivos de Desarrollo Sostenible ODS planteados por las Naciones Unidas. Un ejemplo de ODS que cumple el trabajo es el número 13 sobre acción en el clima, ya que los herbicidas tienen un papel muy importante en la contaminación del planeta. Asimismo, cumple otros Objetivos de Desarrollo Sostenibles detallados en el Anejo I.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS.

#### 3.1. Emplazamiento, diseño de tratamiento y condiciones ambientales.

El trabajo experimental se llevó a cabo en un invernadero de la ETSIAMN de la Universitat Politècnica de Valencia (UPV en el periodo febrero -noviembre 2023.

Respecto al diseño del experimento, el trabajo se ha dividido en 5 ensayos, 3 con *Lolium rigidum* y 2 con *Sonchus oleraceus*. Cada uno de estos constaba con un tratamiento control tratado únicamente con agua (CTA) y el resto de los tratamientos del ensayo según la dosis de estudio seleccionada del bioherbicida ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Todos los tratamientos, incluido el control, constaban de un total de 10 plantas cada uno de ellos.

En el caso de *Lolium rigidum* se han realizado 9 tratamientos con carvacrol formulado (de CVF1-CVF9) y 8 tratamientos con eugenol formulado (EUGF1-EUGF8) resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1: Tratamientos y dosis aplicados en *Lolium rigidum*.

Dosis aplicadas para <i>Lolium Rigidum</i>				
ENSAYOS	CARVACROL F.		EUGENOL F.	
	Tratamiento	Dosis ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Tratamiento	Dosis ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )
Controles	CTA	0	CTA	0
	CVF1	6		
1° ensayo	CVF2	9		
	CVF3	12		
	CVF4	15		
	CVF5	18		
			EUGF1	12
2° ensayo			EUGF2	24
			EUGF3	36
			EUGF4	48
			EUGF5	60
3° ensayo	CVF6	21	EUGF6	72
	CVF7	24	EUGF7	84
	CVF8	27	EUGF8	96
	CVF9	30		

En el caso de *Sonchus oleraceus* se han realizado 7 tratamientos con carvacrol formulado (CVF10 – CVF17) y 5 con eugenol formulado (EUGF9 – EUGF13) con sus respectivos controles (Tabla 2).

Tabla 2: Tratamientos y dosis aplicadas en *Sonchus oleraceus*.

Dosis aplicadas para <i>Sonchus oleraceus</i>				
ENSAYOS	CARVACROL F.		EUGENOL F.	
	Tratamiento	Dosis ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Tratamiento	Dosis ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )
Controles	CTA	0	CTA	0
	CVF10	12		
4° ensayo	CVF11	15		
	CVF12	18		
5° ensayo	CVF13	6	EUGF9	8
	CVF14	12	EUGF10	16
	CVF15	18	EUGF11	24
	CVF16	24	EUGF12	32
	CVF17	30	EUGF13	40

Las condiciones ambientales (temperatura y humedad media) durante los ensayos se presentan en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3: Condiciones climáticas en los ensayos con *Lolium rigidum*.

Condiciones climáticas para el <i>Lolium rigidum</i> durante el estudio			
ENSAYO	FECHA (INICIO-FINAL)	TEMPERATURA MEDIA ( $^{\circ}\text{C}$ )	HUMEDAD MEDIA (%)
1° ensayo	20/02/2023 - 22/03/22	21	46.1
2° ensayo	25/03/22 - 24/04/22	21.7	53.9
3° ensayo	11/05/23 - 11/06/23	24.4	60.12

Tabla 4: Condiciones climáticas en los ensayos con *Sonchus oleraceus*.

Condiciones climáticas para el <i>Sonchus oleraceus</i> durante el estudio			
ENSAYO	FECHA (INICIO-FINAL)	TEMPERATURA MEDIA ( $^{\circ}\text{C}$ )	HUMEDAD MEDIA (%)
3° ensayo	25/03/22 - 24/04/22	21.7	53.9
4° ensayo	03/10/2023 - 02/11/2023	19.1	70

### 3.2. Preparación del ensayo.

Para obtener las plantas arvenses necesarias para los ensayos se prepararon semilleros para cada especie en bandejas de 40 x25cm. El sustrato utilizado consistió en una mezcla de turba y perlita en proporción 3:1. La mezcla humedecida se distribuyó uniformemente en las bandejas y se sembraron las semillas. Posteriormente, las semillas se cubrieron con una capa fina de sustrato y se regaron con regularidad. Una vez que las semillas germinaron y las plántulas desarrollaron las primeras hojas, se trasplantaron a macetas de 8 cm de altura y 7 cm en diámetro utilizando el mismo sustrato, colocando un papel de filtro en el fondo de cada maceta para evitar la pérdida de sustrato a través de los orificios del drenaje. Las macetas se organizaron en grupos uniformes de 10 plantas por bandeja (Figura 5), utilizando una bandeja por cada tratamiento.

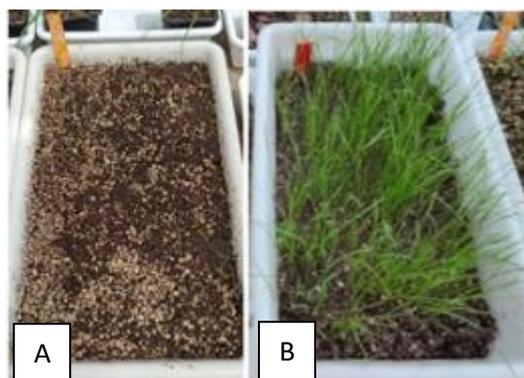


Figura 5: Semillero de *Lolium rigidum*; Primer día del ensayo (A); Momento del trasplante a macetas para los tratamientos (B).

En el caso de *Lolium rigidum* se han realizado 9 tratamientos de carvacrol formulado y 8 de eugenol formulado. Por otra parte, en *Sonchus oleraceus* se han efectuado 7 tratamientos de carvacrol formulado y 5 de eugenol formulado. En su conjunto se han utilizado 170 muestras de *L. rigidum* y 120 de *S. oleraceus*.

### 3.3. Compuestos naturales.

Los bioherbicidas utilizados han sido el carvacrol y eugenol formulados, proporcionados por la empresa Seipasa. Al tener ya una formulación, no se ha añadido ningún emulsionante.

### 3.4. Aplicación de tratamientos y seguimiento.

Los herbicidas naturales aplicaron mediante pulverización directa sobre la parte foliar de las plantas a tratar. Para cada dosis experimental se añadieron 50 mL de agua y la concentración del bioherbicida estudiada ( $\mu\text{L}$ ). En el caso de las plantas control, solo se pulverizó agua. El producto se aplicó en un entorno controlado para evitar cualquier riesgo de contaminación por el bioherbicida. En cuanto al riego durante el ensayo, las plantas se regaron a intervalos de 3 días a la semana (lunes, miércoles y viernes). La cantidad de agua utilizada para cada tratamiento fue de 600 mL sobre la bandeja.

El ensayo para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos sobre las plantas arvenses seleccionadas se llevó a cabo durante un periodo de 30 días. El seguimiento de los ensayos se realizó de manera regular, a las 24 horas y posteriormente a los 3, 7, 15 y 30 días después de la aplicación de los tratamientos, tomando fotografías de las plantas y comparando los efectos de los distintos tratamientos con el control. Se recogieron datos de dos variables: eficacia y nivel de daño, que se detallan en el apartado 3.5. Al final del periodo de 30 días, se procedió a la extracción y análisis de la muestra.

### 3.5. Valoración de la eficacia y el nivel de daño.

Después de la aplicación de los tratamientos se evaluaron dos variables: la eficacia y el nivel de daño causado. La eficacia se clasificó con un valor de 0 si la planta permanecía viva y un valor de 100 si la planta hubiera muerto. Para medir el nivel de daño (Figura 6), se ha desarrollado una escala de 0 a 3 en función del daño provocado por el bioherbicida. Los valores de esta escala representan lo siguiente:

- **Nivel 0:** indica que la planta no muestra ningún daño como resultado del tratamiento.
- **Nivel 1:** daño leve en la planta, manifestado por una ligera decoloración de las hojas o un leve decaimiento de estas.
- **Nivel 2:** se ha identificado como daño moderado, en el que las plantas muestran síntomas evidentes del tratamiento, como una notable decoloración de las hojas y un marcado decaimiento de estas. A pesar de estos efectos, la planta está viva.
- **Nivel 3:** indica que la planta está muerta a causa del tratamiento aplicado.

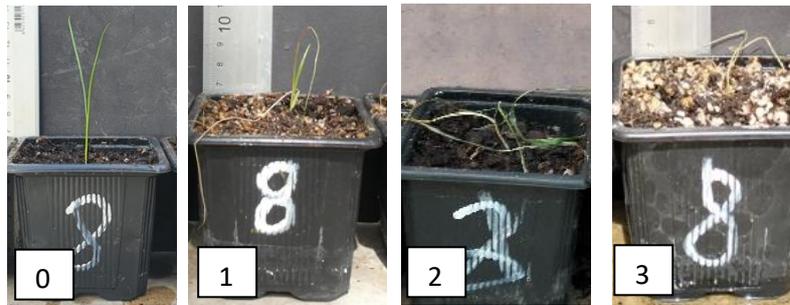


Figura 6: Diferentes niveles de daño desde el nivel 0 al nivel 3 en *Lolium rigidum* a los 30 días de la aplicación de los tratamientos.

El seguimiento de los daños en diferentes momentos tras la aplicación del bioherbicida permite analizar la respuesta de la planta al tratamiento. Si el daño aumenta de 0 a 3, es indicio que el tratamiento ha sido eficaz para el control de la planta arvense. Por el contrario, si los daños se mantienen bajos a lo largo del tiempo, puede sugerir que el tratamiento no es efectivo. Esta evaluación se llevó a cabo en intervalos de tiempo comentados en el apartado 3.4.

### 3.6. Determinación del peso seco y el fresco.

Treinta días después de la aplicación de los tratamientos, se dio por finalizado el ensayo, y se extrajeron las plantas de las macetas para medir su peso fresco y seco. Una vez extraídas, las plántulas se pesaron en una balanza de precisión para registrar su peso fresco. A continuación, se introdujeron en una estufa a 65°C, y transcurridos tres días se determinó su peso seco (Figura 7).



Figura 7: Muestra de *Lolium rigidum* durante la toma de datos de peso fresco (A) y la toma de datos del peso seco para *Sonchus oleraceus* (B).

### 3.7. Determinación de la longitud de las plantas.

Al final de los ensayos, también se evaluaron las longitudes de las plantas arvenses tratadas (Figura 8). El día de la extracción, se midieron tanto la longitud de la parte aérea como de las raíces. Se tomaron imágenes de las plantas en el momento de la extracción, que después fueron procesadas con el programa Digimizer v.5.4.7<sup>®</sup> (MedCalc Software Ltd., Ostend, Belgium, 2020) para medir con precisión la longitud de la parte aérea y radicular. Este procedimiento proporcionó datos detallados sobre el crecimiento de las plantas en función del tratamiento aplicado.



Figura 8: Muestras de la dosis de carvacrol formulado 9 µl de *Lolium rigidum* a los 30 días de la aplicación de los tratamientos (final del ensayo).

### 3.8. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos mediante fueron analizados utilizando el programa estadístico Statgraphics, versión 19 Centurion (Statgraphics Technologies, The Plains, Virginia). Se realizaron dos tipos de análisis: un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, que considero la variable tratamiento para cada especie, y un ANOVA multifactorial, que incluyó los factores tratamiento y especie para comparar todos los resultados. Las variables dependientes evaluadas fueron la eficacia, el nivel de daño, peso seco, peso fresco y longitud. Los factores estudiados incluyeron especie, tratamiento y día.

Todos estos análisis estadísticos se llevaron a cabo con un nivel de confianza del 95% y se utilizaron el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para la comparación de medias.

## 4. RESULTADOS.

### 4.1. Resultados en *Lolium rigidum*.

Respecto a la eficacia de los tratamientos (Figura 9), se detectó mortalidad tras 7 días de aplicación (7DDA) de los tratamientos en carvacrol formulado 27 y 30 µL/mL (CVF8 y CVF9 respectivamente) y eugenol formulado 96 µL/mL (EUGF8) (Figura 9A). Una vez transcurridos los 15 días después de la aplicación (15DDA), se ha ido incrementado la eficacia de varios tratamientos. CVF9 sigue siendo el tratamiento con mayor mortalidad con un 70% de eficacia (Figura 9B). Otras dosis, empiezan a ser eficaces sin alcanzar valores superiores al 50 % como las dosis de carvacrol formulado de 24, 18 y 15 µL (CVF7, CVF5 y CVF4). Para el eugenol formulado, ocurre exactamente lo mismo consiguiendo una baja eficacia en las dosis de 72, 60 y 48 µL/mL (EUGF6, EUGF5 y EUGF4).

Una vez transcurrido el periodo de evaluación (30DDA), se ha incrementado la eficacia de los tratamientos de forma general para aquellas dosis que ya presentaban eficacia en los días anteriores (Figura 9C). Las únicas dosis que han surgido en este último periodo han sido carvacrol formulado 21  $\mu\text{L}$  (CVF6) alcanzando un 50 % de eficacia y eugenol formulado 84  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (EUGF7) con un 20% de eficacia. El tratamiento que mayor eficacia ha conseguido un valor del 90% ha sido carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}$ . La dosis más efectiva en eugenol es de 60% a 96  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (CVF8).

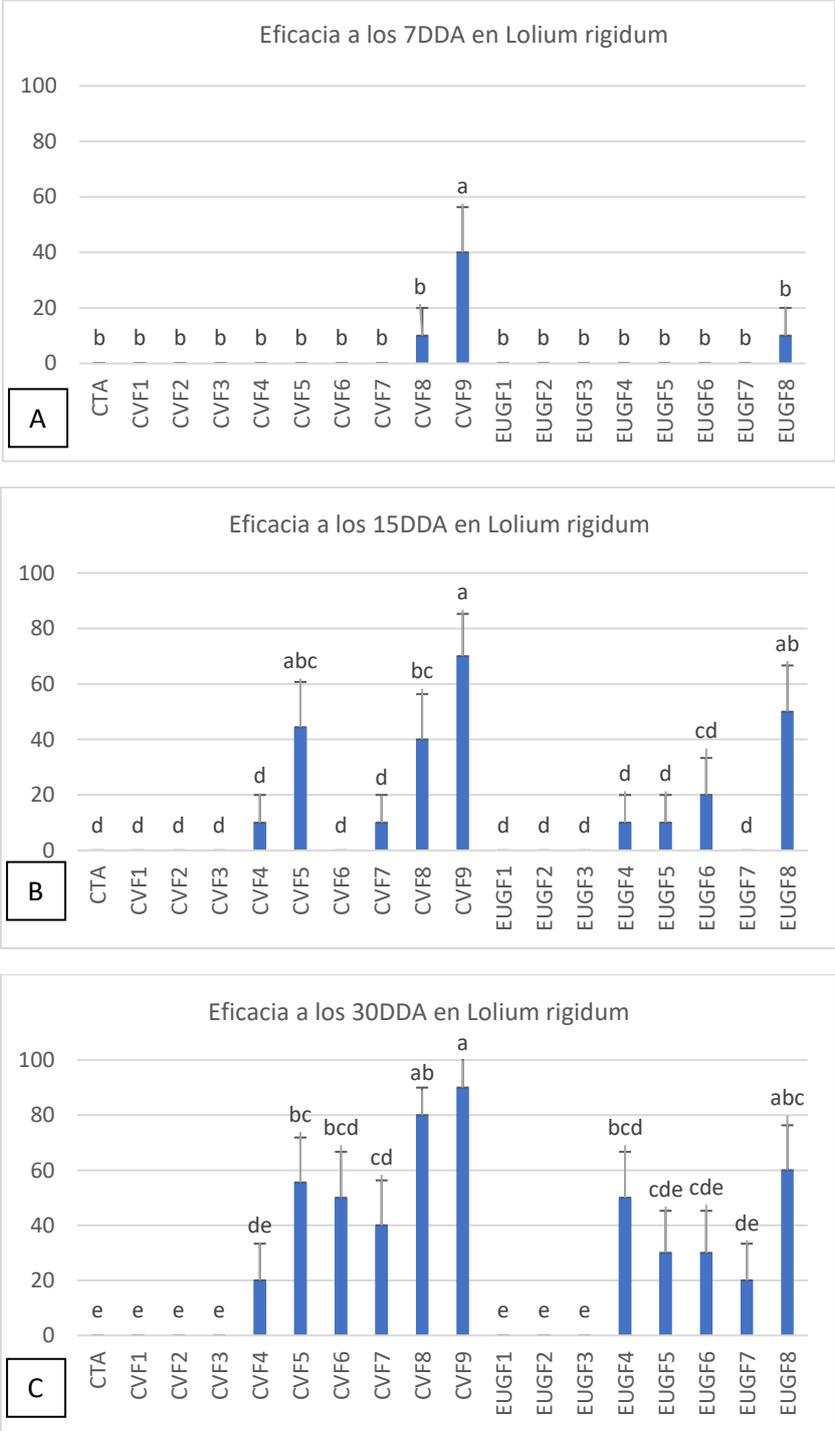
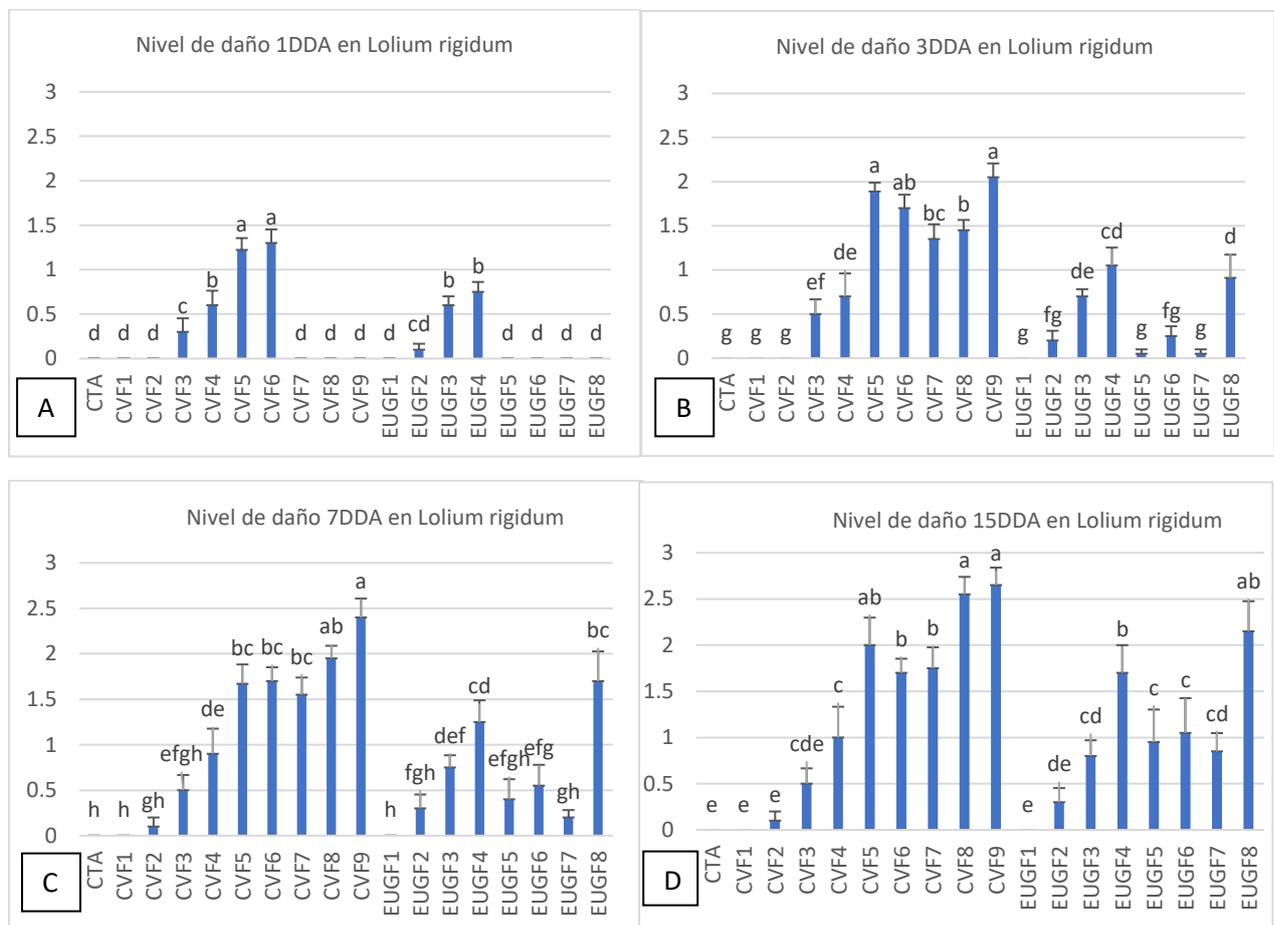


Figura 9: Eficacia de los tratamientos en Lolium rigidum a varios días después del inicio del tratamiento: a los 7 días (A); a los 15 días (B); a 30 (C).

En cuanto al nivel de daño (Figura 10), algunas dosis ya empezaron a generar leves daños al día después de la aplicación (1DDA). Hay que destacar las dosis de carvacrol a 18 y 21  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (CVF5 y CVF6) (Figura 10A). A los 3 días después de la aplicación (3DDA), hay un incremento generalizado del nivel de daño en la mayoría de las dosis (Figura 10B). Cabe destacar que el carvacrol formulado presenta una diferencia notoria de daño respecto al eugenol formulado cuando la concentración de este supera 18  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . En este momento, el carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  es el que presenta un mayor nivel de daño. Tras 7DDA, continua el incremento del nivel de daño excepto para las dosis más bajas de carvacrol y eugenol formulado (CVF1 y EUGF1) que no generan ningún daño a las plantas (Figura 10C).

A los 15DDA, sigue aumentando el daño en la mayor parte de las dosis como a los 7DDA (Figura 10D). Las dosis de carvacrol que más daño genera son las de 27 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  con una media superior de 2,5 de nivel de daño en ambos casos. Por otra parte, el único tratamiento de eugenol formulado que supera la media de 2 de nivel de daño, solo es 96  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . El último día del estudio (30DDA), se mantienen los mismos niveles de daño que a los 15DDA (Figura 10E).



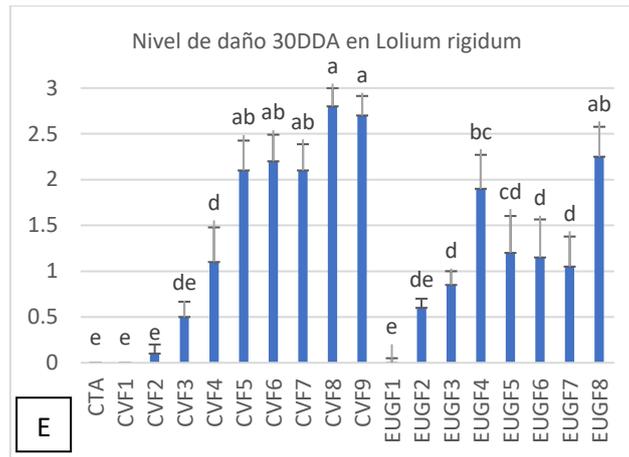


Figura 10: Nivel de daño en *Lolium rigidum* en función del tipo tratamiento y los días transcurridos tras la aplicación de los tratamientos (DAT): 1 DAT (A); 3 DAT (B); 7 DAT (C); 15 DAT (D); 30 DAT (E).

Una vez analizado el nivel de daño y eficacia según el día después de la aplicación, se ha realizado una ANOVA multifactorial (Tabla 5). Esto permite evaluar cómo el tiempo transcurrido después de la aplicación (DDA) hasta notar el efecto del tratamiento para los parámetros estudiados. En el caso de la **eficacia**, se detecta una diferencia significativa a partir de los 7 días y el momento de mayor eficacia se alcanza a los 30 días después de la aplicación. Respecto a los tratamientos, las dosis más bajas de carvacrol formulado (6, 9 y 12  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) y algunas concentraciones de eugenol formulado (12, 24 y 36  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) no tienen una diferencia significativa respecto al control. El tratamiento más efectivo con diferencia significativa respecto al resto es carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

En cuanto al **nivel de daño**, va incrementando a lo largo de los 30 días con diferencia significativa entre todos los días de estudio alcanzando el máximo de nivel de daño el último día de análisis. Respecto al tratamiento utilizado, las dosis de carvacrol formulado 6  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y eugenol formulado 12  $\mu\text{L}/\text{mL}$  no presentan diferencia significativa respecto al control. El compuesto que más nivel de daño ha generado ha sido carvacrol formulado 18, 21, 27 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  sin diferencia significativa entre ellos.

Tabla 5: ANOVA multifactorial de la eficacia y nivel de daño de *Lolium rigidum* en función del tiempo después de la aplicación y tipo de tratamiento.

Eficacia y nivel de daño en <i>Lolium rigidum</i> según DDA y tratamiento		
Tiempo (DDA)	Eficacia	Nivel de daño
0	0 $\pm$ 1.717 c	0 $\pm$ 0.050 f
1	0 $\pm$ 1.717 c	0.269 $\pm$ 0.050 e
3	0 $\pm$ 1.717 c	0.72 $\pm$ 0.050 d
7	3.333 $\pm$ 1.717 c	0.892 $\pm$ 0.050 c
15	14.444 $\pm$ 1.717 b	1.114 $\pm$ 0.050 b
30	28.889 $\pm$ 1.717 a	1.255 $\pm$ 0.050 a
Tratamiento	Eficacia	Nivel de daño
CONTROL	0 $\pm$ 2.975 d	0 $\pm$ 0.086 h
CARVACROL F. (6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	0 $\pm$ 2.975 d	0 $\pm$ 0.086 h
CARVACROL F. (9 $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	0 $\pm$ 2.975 d	0.067 $\pm$ 0.086 gh
CARVACROL F. (12 $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	0 $\pm$ 2.975 d	0.383 $\pm$ 0.086 def
CARVACROL F. (15 $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	5 $\pm$ 2.975 cd	0.717 $\pm$ 0.086 c
CARVACROL F. (18 $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	18.333 $\pm$ 2.975 b	1.5 $\pm$ 0.086 a

CARVACROL F. (21 µL/mL)	6.667 ± 2.975 cd	1.417 ± 0.086 a
CARVACROL F. (24 µL/mL)	8.333 ± 2.975 c	1.125 ± 0.086 b
CARVACROL F. (27 µL/mL)	21.667 ± 2.975 b	1.458 ± 0.086 a
CARVACROL F. (30 µL/mL)	31.667 ± 2.975 a	1.633 ± 0.086 a
EUGENOL F. (12 µL/mL)	0 ± 2.975 d	0 ± 0.086 h
EUGENOL F. (24 µL/mL)	0 ± 2.975 d	0.25 ± 0.086 fg
EUGENOL F. (36 µL/mL)	0 ± 2.975 d	0.61 ± 0.086 cd
EUGENOL F. (48 µL/mL)	10 ± 2.975 c	1.108 ± 0.086 b
EUGENOL F. (60 µL/mL)	6.667 ± 2.975 cd	0.433 ± 0.086 def
EUGENOL F. (72 µL/mL)	8.333 ± 2.975 c	0.516 ± 0.086 cde
EUGENOL F. (84 µL/mL)	3.333 ± 2.975 cd	0.358 ± 0.086 ef
EUGENOL F. (96 µL/mL)	20 ± 2.975 b	1.168 ± 0.086 b

Los valores mostrados son media ± error estándar de 10 plantas por tratamiento. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos  $p < 0.05$ .

Respecto a los parámetros analizados al final del ensayo, se obtuvieron los valores medios del peso fresco, peso seco y longitud de las plántulas tratadas con cada uno de los tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6: Peso fresco, peso seco y longitud de las plantas de *Lolium rigidum* de los diferentes tratamientos estudiados al final del ensayo.

TRATAMIENTOS /DOSIS	Peso fresco (g)	Peso seco (g)	Longitud (cm)
CONTROL	2.262 ± 0.294 c	0.417 ± 0.045 b	40.898 ± 1.795 ab
CARVACROL F. (6 µL/mL)	3.726 ± 0.245 a	0.567 ± 0.033 a	43.307 ± 2.024 a
CARVACROL F. (9 µL/mL)	3.038 ± 0.379 b	0.412 ± 0.054b	44.491 ± 1.063 a
CARVACROL F. (12 µL/mL)	0.841 ± 0.074 ef	0.218 ± 0.023 c	42.928 ± 1.322 a
CARVACROL F. (15 µL/mL)	0.561 ± 0.145 fg	0.152 ± 0.036 cd	36.217 ± 4.755 bc
CARVACROL F. (18 µL/mL)	0.155 ± 0.098 gh	0.026 ± 0.015 e	17.347 ± 4.093 de
CARVACROL F. (21 µL/mL)	0.028 ± 0.006 h	0.018 ± 0.004 e	18.484 ± 1.737 d
CARVACROL F. (24 µL/mL)	0.011 ± 0.002 h	0.007 ± 0.001 e	14.668 ± 1.547 defg
CARVACROL F. (27 µL/mL)	0.0115 ± 0.004 h	0.004 ± 0.001 e	9.982 ± 1.161 fg
CARVACROL F. (30 µL/mL)	0.009 ± 0.003 h	0.005 ± 0.002 e	11.573 ± 1.450 efg
EUGENOL F. (12 µL/mL)	1.263 ± 0.145 d	0.171 ± 0.012 cd	43.736 ± 1.649 a
EUGENOL F. (24 µL/mL)	0.985 ± 0.182 de	0.121 ± 0.019 d	32.523 ± 1.662 c
EUGENOL F. (36 µL/mL)	0.648 ± 0.158 ef	0.169 ± 0.039 cd	38.879 ± 2.641 abc
EUGENOL F. (48 µL/mL)	0.062 ± 0.023 h	0.028 ± 0.009 e	16.986 ± 3.992 de
EUGENOL F. (60 µL/mL)	0.028 ± 0.007 h	0.015 ± 0.003 e	17.974 ± 1.715 de
EUGENOL F. (72 µL/mL)	0.041 ± 0.020 h	0.011 ± 0.003 e	16.222 ± 1.766 def
EUGENOL F. (84 µL/mL)	0.031 ± 0.005 h	0.019 ± 0.006 e	18.690 ± 1.470 d
EUGENOL F. (96 µL/mL)	0.015 ± 0.004 h	0.005 ± 0.001 e	8.7041 ± 1.934 g

Los valores mostrados son media ± error estándar de 10 plantas por tratamiento. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos  $p < 0.05$ .

En cuanto al efecto de los tratamientos sobre el **peso fresco** de las plántulas, todas las dosis presentan diferencia significativa con las muestras control. Cabe destacar que las dosis de carvacrol formulado 6 y 9 µL/mL presentan un mayor peso fresco que el tratamiento control. A partir de la concentración de 18 µL/mL en carvacrol formulado y de 48 µL/mL en eugenol formulado, presentan una diferencia notoria respecto al control, pero sin diferencias significativas entre todos estos tratamientos. La dosis

que más se ha diferenciado respecto el control ha sido carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  con una media de 0.009 gramos.

Respecto al **peso seco**, es lo mismo que en el caso del peso fresco, ya que apartir de la concentración de 18  $\mu\text{L}/\text{mL}$  en carvacrol formulado y de 48  $\mu\text{L}/\text{mL}$  en eugenol formulado no presentan diferencia significativa entre estos tratamientos. En este caso, la dosis que más ha modificado el peso seco ha sido carvacrol formulado 27  $\mu\text{L}/\text{mL}$  con una media de 0.004 gramos.

Por otra parte, la **longitud** presenta una mayor variación respecto a los parámetros anteriores. Las dosis más bajas de carvacrol formulado (6, 9 y 12  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) y eugenol formulado 12  $\mu\text{L}/\text{mL}$  no presentan diferencias significativas con el control. Las dosis que mayor diferencia presenta respecto al control son las dosis más elevadas de carvacrol (24, 27 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) y eugenol formulado 96  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Este último tratamiento ha sido el que mayor modificación ha generado con una media de 8.7041 cm respecto a la media control de 40.989 cm.

Teniendo en cuenta la eficacia obtenida para cada concentración de compuesto, se ha obtenido la **curva dosis respuesta**. Esta se utiliza para describir la relación entre la concentración del compuesto y el efecto de estudio sobre la planta (la eficacia). En este caso, se ha utilizado con el objetivo de obtener la concentración teórica del compuesto para conseguir una eficacia del 100%. En el caso del carvacrol formulado se ha obtenido la gráfica presentada en la Figura 11.

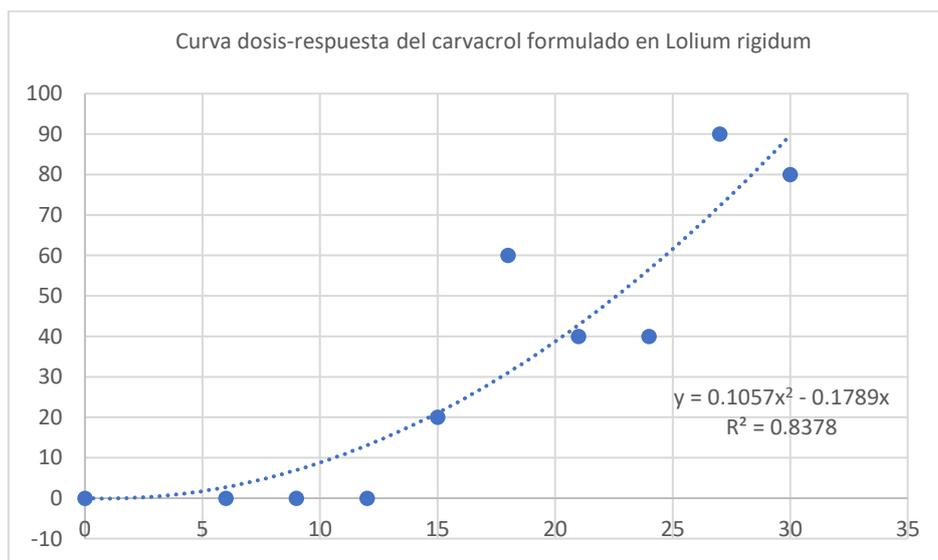


Figura 11: Curva dosis respuesta de carvacrol formulado en *Lolium rigidum*.

A partir de la ecuación de la recta, se ha obtenido dicha concentración.

$$y = 0.1057x^2 - 0.1789x$$

$$y = 100$$

$$x = 31.62 \mu\text{L}/\text{mL}$$

Por lo tanto, la concentración que se necesitaría de carvacrol formulado para alcanzar una eficacia del 100% sería de 31.62  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . En el caso del eugenol formulado se ha obtenido la siguiente curva dosis - respuesta representada en la Figura 12.

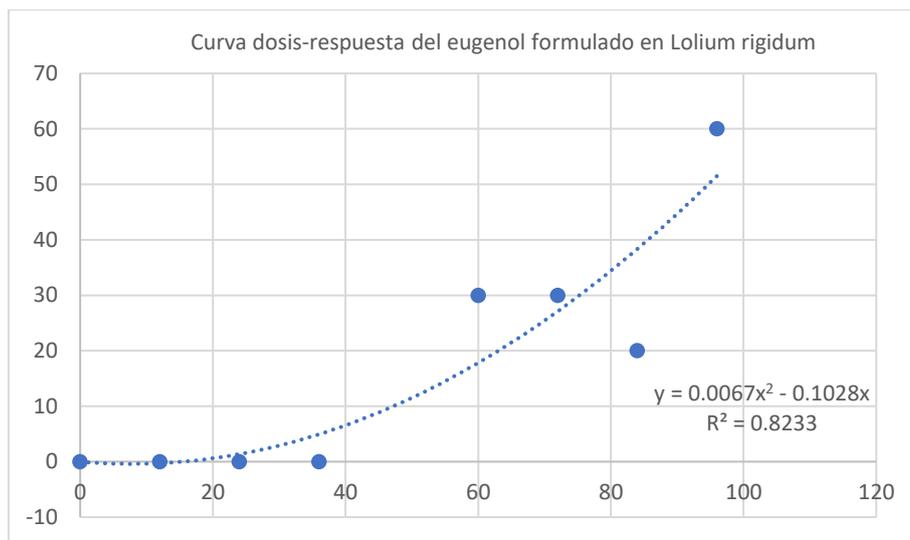


Figura 12: Curva dosis respuesta de eugenol formulado en *Lolium rigidum*.

$$y = 0.0067x^2 - 0.1028x$$

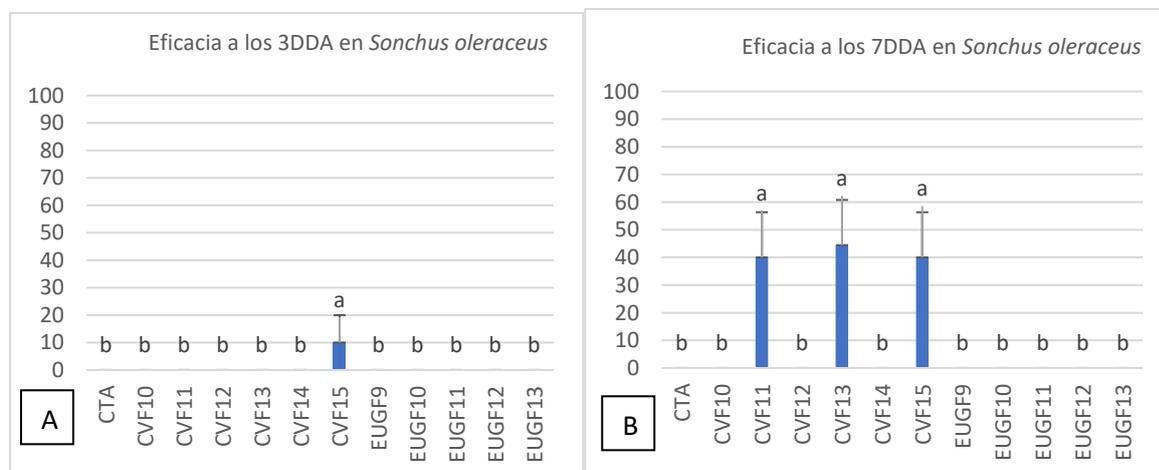
$$y = 100$$

$$x = 158.78 \mu\text{L/mL}$$

La concentración teórica con la cual se obtendría un 100% de eficacia para el eugenol formulado es de 158.78 µL/mL.

#### 4.2. Resultados en *Sonchus oleraceus*.

En cuanto a la eficacia de los tratamientos, a los 3DDA hay una dosis de carvacrol formulado que ya presenta una leve eficacia (CVF15 que es carvacrol 30 µL/mL) (Figura 13A). A los 7DDA, las dosis de carvacrol formulado 12,18 y 30 µL/mL (CVF11, CVF13 y CVF15) alcanzan una eficiencia entre el 40 y el 50 % (Figura 13B). Tras 15DDA, todas las dosis de carvacrol aumentan su eficacia excepto carvacrol formulado 6 µL/mL (CVF10) (Figura 13C). A los 30DDA, todas las dosis de carvacrol superiores a 6 µL/mL, excepto 15 µL/mL, alcanzan una eficacia entre el 80 y 90% sin diferencia significativa entre ambas (Figura 13D). Durante todo el periodo de estudio, no se ha detectado ninguna planta muerta por las dosis de eugenol formulado.



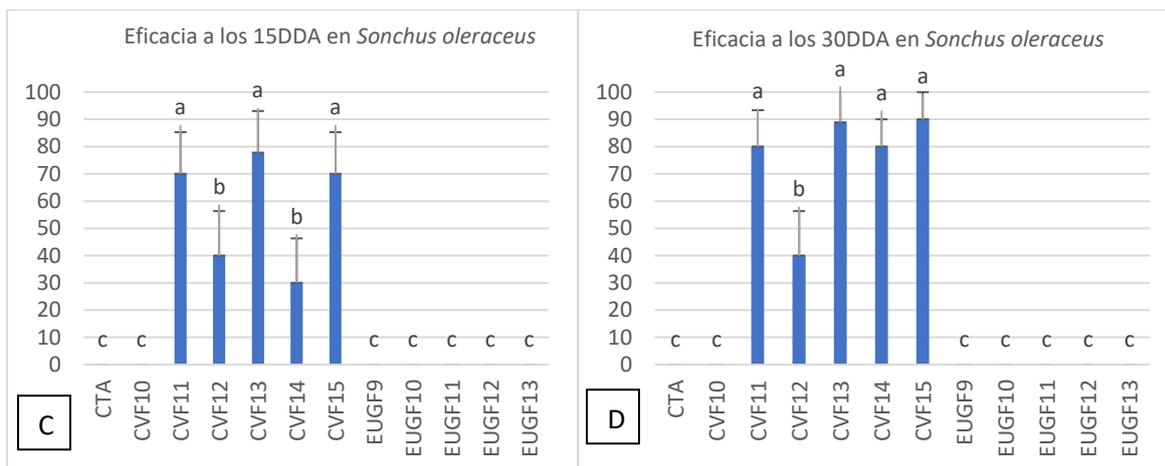
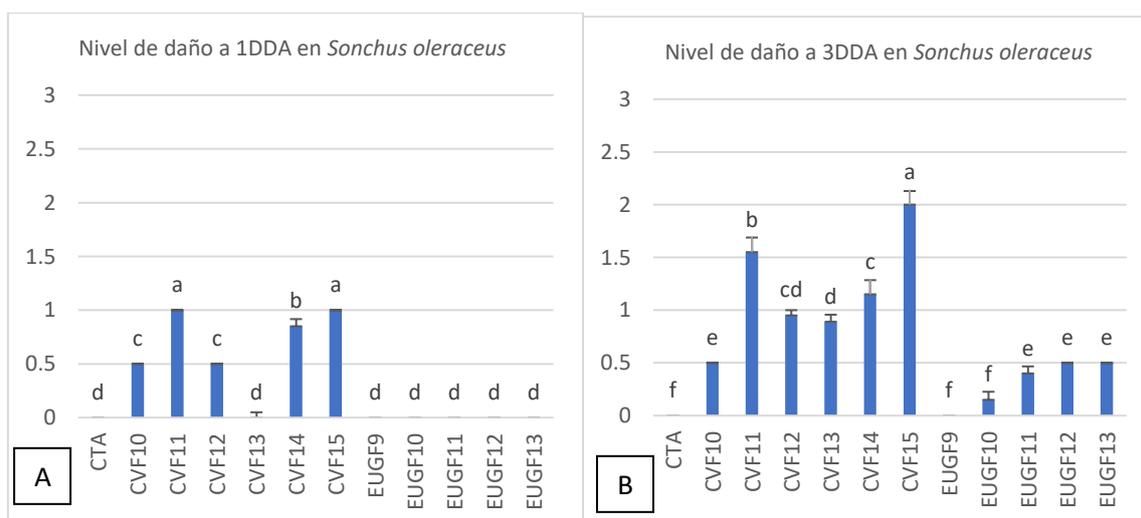


Figura 13: Eficacia de los tratamientos en *Sonchus oleraceus* a varios días después del inicio del tratamiento: a los 3 días después de tratamiento (A); a los 7 días (B); a 15 días (C); a 30 días (D).

Respecto al nivel de daño, al 1DDA ya se detectó leves daños por parte de las dosis de carvacrol formulado excepto la dosis de 18  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (Figura 14A). Tras 3DDA, tanto las dosis de carvacrol como eugenol formulado incrementan su nivel de daño excepto eugenol formulado 8 (EUGF9). Hay que destacar que carvacrol 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (CVF15) es la dosis que más daño genera con una media de 2 (Figura 14B). A los 7DDA, los tratamientos de eugenol formulado siguen igual que a los 3DDA (Figura 14C). Sin embargo, las dosis de carvacrol formulado incrementan el nivel daño excepto la dosis de 6  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (CVF10). CVF15 sigue siendo la dosis que más daño genera a la planta arvense seguida de carvacrol formulado 12  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (CVF11).

Tras 15DDA, el eugenol formulado no incrementa los daños (Figura 14D). Las dosis de carvacrol formulado presentan una media superior a 2, excepto CVF10, sin diferencia significativa entre ellas. A los 30DDA presenta resultados similares a los 15DDA destacando CVF15 con una media cercana al 3. Sin embargo, las dosis de eugenol formulado no han superado la media de 0,5 (Figura 14E).



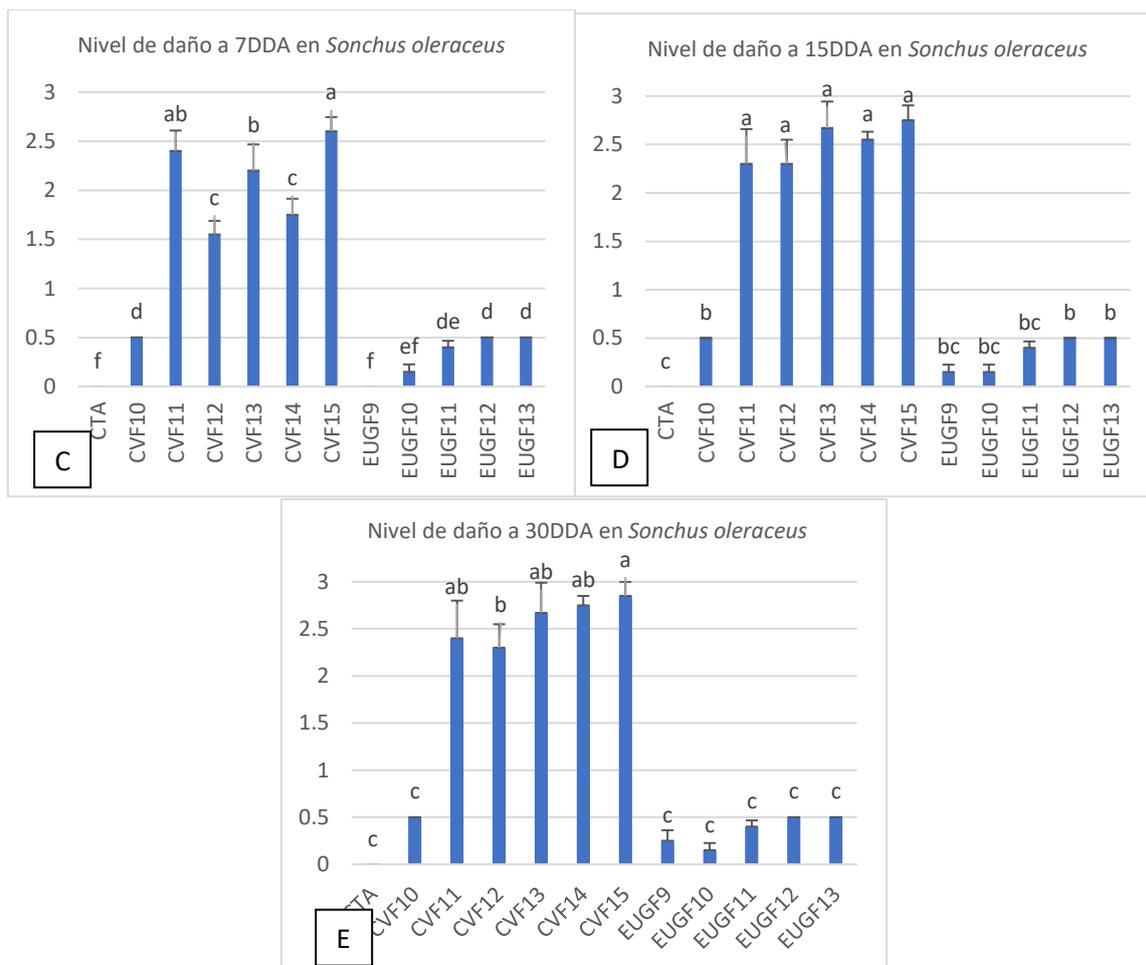


Figura 14: Nivel de daño en *Lolium rigidum* en función del tipo tratamiento y los días transcurridos tras la aplicación de los tratamientos (DAT): 1 DAT (A); 3 DAT (B); 7 DAT (C); 15 DAT (D); 30 DAT (E).

Tras evaluar el nivel de daños y la eficacia en función de los días posteriores a la aplicación, se realizó un análisis ANOVA multifactorial. Este análisis permite examinar cómo los días después de la aplicación (DDA) y el tipo de tratamiento han influido en los parámetros estudiados. En cuanto a la **eficacia**, se ha detectado que a partir de los 7 días empieza a producirse cierta eficacia de los tratamientos con diferencia significativa respecto los días anteriores. Se alcanza la máxima efectividad a los 30 días con diferencia significativa respecto al resto de días. Respecto a los tratamientos, ninguna dosis de eugenol formulado ha sido eficaz. Excepto carvacrol formulado 6  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , todas las dosis de carvacrol formulado presentan diferencia significativa respecto al control. Das dosis que mayor efectividad han tenido ha sido carvacrol formulado 12, 18 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  sin diferencia significativa entre ambas.

Por otra parte, el **nivel de daño** va incrementando hasta los 15 días que se alcanza el nivel de daño máximo (Figura 14). Este nivel de daño se mantiene estable a los 30 días sin diferencias significativas entre estas dos fechas. En cuanto a los tratamientos, todas las dosis tienen diferencia significativa respecto el control excepto eugenol formulado 8 y 16  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . La dosis que más nivel de daño se ha detectado ha sido en carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  con diferencias significativas respecto al resto de dosis (Tabla 7).

Tabla 7: ANOVA multifactorial de la eficacia y nivel de daño de *Sonchus oleraceus* en función del tiempo después de la aplicación y tipo de tratamiento.

<b>, Eficacia y nivel de daño en <i>Sonchus oleraceus</i> según DDA y tratamiento</b>		
<b>Tiempo (DDA)</b>	<b>Eficacia</b>	<b>Nivel de daño</b>
0	0 ± 2.305 d	0 ± 0.052 e
1	0 ± 2.305 d	0.321 ± 0.052 d
3	0.833 ± 2.305 d	0.717 ± 0.052 c
7	10 ± 2.305 c	1.046 ± 0.052 b
15	24.167 ± 2.305 b	1.233 ± 0.052 a
30	31.667 ± 2.305 a	1.275 ± 0.052 a
<b>Tratamiento</b>	<b>Eficacia</b>	<b>Nivel de daño</b>
CONTROL	0 ± 3.260 c	0 ± 0.0739 f
CARVACROL F.(6µL/mL)	0 ± 3.260 c	0.417 ± 0.0739 d
CARVACROL F.(12 µL/mL)	31.667 ± 3.260 a	1.608 ± 0.0739 b
CARVACROL F.(15 µL/mL)	13.333 ± 3.260 b	1.267 ± 0.0739 c
CARVACROL F.(18 µL/mL)	35 ± 3.260 a	1.417 ± 0.0739 bc
CARVACROL F.(24 µL/mL)	18.333 ± 3.260 b	1.508 ± 0.0739 b
CARVACROL F.(30 µL/mL)	35.058 ± 3.260 a	1.867 ± 0.0739 a
EUGENOL F.(8 µL/mL)	0 ± 3.260 c	0.067 ± 0.0739 ef
EUGENOL F.(16 µL/mL)	0 ± 3.260 c	0.1 ± 0.0739 ef
EUGENOL F.(24 µL/mL)	0 ± 3.260 c	0.267 ± 0.0739 de
EUGENOL F.(32 µL/mL)	0 ± 3.260 c	0.333 ± 0.0739 d
EUGENOL F.(40 µL/mL)	0 ± 3.260 c	0.333 ± 0.0739 d

Los valores mostrados son media ± error estándar de 10 plantas por tratamiento. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos  $p < 0.05$ .

Con respecto a los parámetros analizados a los 30 días tras la aplicación de los tratamientos, se obtuvieron los valores medios de peso fresco, peso seco y longitud para las plantas de cada tratamiento presentados en la Tabla 8.

Tabla 8: Peso fresco (g), peso seco (g) y longitud (cm) de las plantas de *Sonchus oleraceus* de los diferentes tratamientos estudiados al final del ensayo.

<b>TRATAMIENTOS /DOSIS</b>	<b>Peso fresco (g)</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Longitud (cm)</b>
CONTROL	4.935 ± 0.376 a	0.527 ± 0.044 a	50.063 ± 2.439 a
CARVACROL F.(6µL/mL)	3.882 ± 0.476 b	0.382 ± 0.045 bc	39.043 ± 4.921 b
CARVACROL F.(12 µL/mL)	3.317 ± 0.426 bcd	0.360 ± 0.036 bcd	41.201 ± 5.888 ab
CARVACROL F.(15 µL/mL)	0.116 ± 0.103 f	0.031 ± 0.025 e	5.682 ± 2.827 c
CARVACROL F.(18 µL/mL)	2.384 ± 0.515 e	0.247 ± 0.048 d	37.795 ± 45.674 b
CARVACROL F.(24 µL/mL)	0.205 ± 0.183 f	0.029 ± 0.015 e	7.605 ± 2.703 c
CARVACROL F.(30 µL/mL)	0.019 ± 0.014 f	0.007 ± 0.002 e	2.374 ± 1.045 c
EUGENOL F.(8 µL/mL)	3.586 ± 0.426 bc	0.454 ± 0.072 ab	44.701 ± 2.630 ab
EUGENOL F.(16 µL/mL)	2.91 ± 0.259 cde	0.398 ± 0.054 bc	45.394 ± 1.746 ab
EUGENOL F.(24 µL/mL)	2.095 ± 0.172 e	0.287 ± 0.020 cd	42.572 ± 3.067 ab
EUGENOL F.(32 µL/mL)	2.446 ± 0.248 de	0.310 ± 0.042 cd	40.302 ± 2.635 b
EUGENOL F.(40 µL/mL)	2.028 ± 0.148 e	0.252 ± 0.022 d	42.001 ± 1.124 ab

Los valores mostrados son media  $\pm$  error estándar de 10 plantas por tratamiento. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos  $p < 0.05$ .

Respecto al **peso fresco**, todos los tratamientos presentan diferencia significativa respecto al control. Las dosis que más han reducido han sido carvacrol formulado 15, 24 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  siendo esta última dosis la que presenta mayor modificación con una media de 0,019 g respecto a una media de 4,935 g del control. En cuanto al **peso seco**, es parecido a la situación del parámetro anterior. Las dosis mencionadas anteriormente de carvacrol formulado siguen siendo las que mayor modificación representan con diferencia significativa respecto al control que tiene una media de 0,527 gramos. Carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  sigue siendo la dosis que presenta menor media con un valor de 0,007 gramos.

Por último, la **longitud** de las muestras presenta una menor variación que los parámetros anteriores. Las dosis de eugenol formulado no presentan diferencias significativas respecto al control. Las dosis de carvacrol formulado 15, 24 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  no presentan diferencias significativas entre si, pero son las que mayor modificación han generado respecto al control. La dosis más alta de carvacrol formulado tiene una media de 2.374 cm respecto a los 50.063 cm del control.

A partir de las eficacias registradas para cada concentración de compuesto, se ha desarrollado una curva dosis respuesta. Esta curva muestra como varía la eficacia del compuesto en función de la concentración. El objetivo fue determinar la concentración teórica que lograría una eficacia del 100%. En esta especie, el eugenol formulado no ha sido eficaz, ya que ninguna de las concentraciones testadas ha surgido efecto. Por lo tanto, no se ha podido obtener la curva dosis-respuesta. Por otra parte, si que se ha podido obtener la curva dosis respuesta del carvacrol formulado.

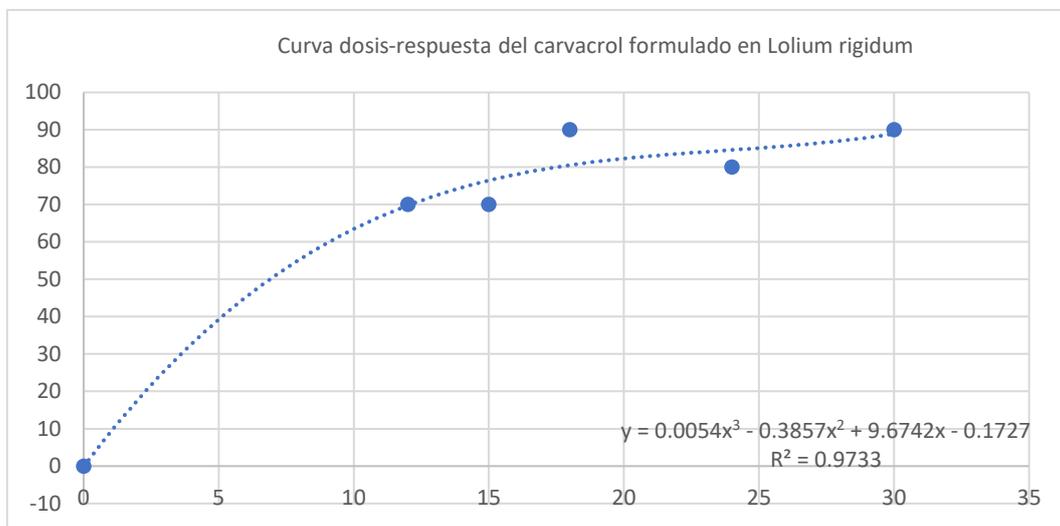


Figura 15: Curva dosis respuesta de carvacrol formulado de *Sonchus oleraceus*.

$$y = 0.0054x^3 - 0.3857x^2 + 9.6742x - 0.1727$$

$$y = 100$$

$$x = 35,94 \mu\text{L}/\text{mL}$$

Para poder conseguir una eficacia del 100% con carvacrol formulado en *Sonchus oleraceus*, se necesitaría una concentración teórica de 35,94  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

## 5. DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos en relación a la eficacia de los tratamientos indican que hay diferencias entre los efectos generados en *Lolium rigidum* y *Sonchus oleraceus*. En ambos casos, las dosis de carvacrol formulado han resultado más efectivas, en general, que las dosis de eugenol formulado. En el caso de *Lolium rigidum*, las dosis han sido eficaces a partir de los 7 días alcanzando su máximo el último día de estudio (30DDA). El carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  ha sido la dosis que mayor eficacia ha conseguido con diferencia significativa respecto al resto de tratamientos. También se alcanzó un control eficaz con eugenol formulado 96  $\mu\text{l}$ . Sin embargo, el resto de las dosis de eugenol formulado presentaron una eficacia baja.

En *Sonchus oleraceus* algunos tratamientos empiezan a ser eficaces a partir de los 3 días alcanzando su máxima eficacia a los 30 días. En esta especie se detecta una clara diferencia entre el carvacrol formulado y el eugenol formulado. Por una parte, se alcanza una elevada eficacia con dosis de carvacrol formulado 12, 18 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  sin diferencia significativa entre ambas. Sin embargo, las dosis de eugenol formulado no consiguen ningún tipo de eficacia con esta planta arvense. Por lo tanto, el carvacrol formulado podría ser efectivo tanto para plantas monocotiledóneas (*Lolium rigidum*) como dicotiledóneas (*Sonchus oleraceus*). En el caso de eugenol formulado sería necesario probar concentraciones más elevadas en las dos especies para alcanzar una eficacia óptima.

Un estudio de la Universitat Politècnica de Valencia en colaboración con Seipasa demostró los efectos fitotóxicos de algunos compuestos naturales como el carvacrol en especies de plantas arvenses que se pueden encontrar en cultivos mediterráneos, como *Avena fatua* y *Erigeron bonariensis* (Muñoz et al., 2020). Se demostró que el carvacrol fue eficaz controlando la mayor parte de las muestras después de 7 días de su aplicación (Muñoz et al., 2020). Estos resultados son parecidos a los obtenidos en este ensayo. Hay que tener en cuenta que en los ensayos publicados se utilizó carvacrol puro y en este trabajo ha sido formulado.

En relación con el nivel de daño, este incrementó de forma progresiva en *Lolium rigidum* desde el día de la aplicación hasta alcanzar su máximo valor a los 30 días. Por otra parte, el nivel de daño en *Sonchus oleraceus* va aumentando desde el primer día alcanzando su nivel máximo a los 15 días. En la planta monocotiledónea, las dosis de carvacrol que más nivel de daño han generado han sido de 18, 21, 27 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  sin diferencia significativa entre ambas. También hay que destacar de eugenol formulado la dosis de 96  $\mu\text{L}/\text{mL}$  consigue un nivel de daño importante. En la planta dicotiledónea, las dosis de eugenol formulado han generado un nivel de daño muy reducido sin diferencia significativa entre todas las concentraciones de dicho compuesto. Por lo tanto, carvacrol formulado alcanza un nivel de daño elevado tanto para *Lolium rigidum* como *Sonchus oleraceus*. Cabe destacar que los daños se produjeron antes en la segunda. Esto podría significar que el carvacrol actúa antes en plantas dicotiledóneas que en monocotiledóneas. Sin embargo, el eugenol formulado solo alcanza un nivel de daño notable a una dosis de 96  $\mu\text{L}/\text{mL}$  en *L. rigidum*. En *S. oleraceus* no se ha conseguido ningún nivel de daño importante. Se debería probar mayores concentraciones de este compuesto para comprobar si realmente genera un nivel de daño importante y permite el control de la planta arvense.

Otro estudio realizado en la UPV hizo unos análisis sobre el potencial herbicida de algunos compuestos entre ellos carvacrol y eugenol en condiciones de campo sobre *Sisymbrium officinale* y *Chenopodium album* (Torres-Pagán et al., 2024). Los resultados obtenidos de este estudio indican que tanto carvacrol como eugenol generan cierto nivel de daño en las plantas arvenses, mayor daño siendo producido por carvacrol eugenol, igual que en este trabajo. Por esto se puede considerar que el carvacrol presenta un potencial herbicida mayor que el eugenol, aunque se debería comprobar con más especies.

De manera similar a lo que ocurre con la eficacia y el nivel de daño, el peso y la longitud también se han alterado en función de las dosis aplicadas. En el caso de *Lolium rigidum*, tanto las dosis de eugenol formulado como carvacrol formulado disminuyen ambos parámetros en función de lo eficaz que ha sido la dosis con diferencias significativas respecto al control. En *Sonchus oleraceus*, las plantas tratadas con eugenol formulado no presentan diferencias significativas respecto al control relacionándose con la baja eficacia alcanzada por dichos tratamientos. Por otra parte, el carvacrol formulado induce una reducción de estos dos parámetros de forma considerable para las dosis de 12, 15 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . La dosis que más ha afectado a todos los parámetros generando un control eficaz ha sido carvacrol formulado 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  en ambas especies. En un sobre el efecto del eugenol en el desarrollo de la parte aérea y radicular en *Echinochloa cruz-gali* y *Sorghum halepense* se ha detectado una reducción de la longitud total y del peso al aplicar eugenol en estas plantas. Esto es producido por una reducción del contenido de la clorofila y de la respiración celular (Ahuja et al., 2015b)

Por último, se obtuvo la curva dosis respuesta para cada compuesto en función de la especie estudiada. En el caso de carvacrol formulado, se debería utilizar una dosis de 31,62  $\mu\text{L}/\text{mL}$  para un control 100% efectivo de *L. rigidum* y otra dosis de 35,94  $\mu\text{L}/\text{mL}$  para *S. oleraceus*. Como ya se ha mencionado, las dosis a 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$  fueron las más eficaces. Por otra parte, no fue posible obtener la curva dosis-respuesta de eugenol formulado para *Sonchus oleraceus*, ya que ninguna de las concentraciones ensayadas resultó eficaz. En el caso del *Lolium rigidum*, sería necesario utilizar una concentración de 158.78  $\mu\text{L}/\text{mL}$  para controlar su crecimiento. A la vista de los resultados obtenidos, deberían haberse utilizado unas concentraciones más elevadas de producto para *Sonchus oleraceus* para obtener la curva dosis respuesta.

## 6. CONCLUSIÓN.

Respecto a los efectos de los formulados estudiados sobre *Lolium rigidum*:

- El tratamiento más eficaz y que más nivel de daño produjo fue carvacrol a 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Esta concentración fue la que mayor reducción provocó en el peso fresco y la longitud con respecto al control.
- Se ha calculado la curva dosis respuesta para carvacrol, obteniendo una concentración teórica de 31,62  $\mu\text{L}$  para alcanzar un 100% de eficacia.
- En el caso del formulado a base de eugenol, la concentración que más controló el crecimiento de esta especie fue la de 96  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .
- Se ha obtenido una curva dosis respuesta, obteniendo una concentración teórica de 158,78  $\mu\text{L}/\text{mL}$  para una eficacia del 100%. Por lo tanto, se deberían haber probado concentraciones más elevadas para obtener un control óptimo de esta especie.

Resultados similares se obtuvieron para *Sonchus oleraceus*:

- El formulado a base de carvacrol demostró un buen control, al aplicarlo a las dosis más altas 18 y 30  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .
- En esta especie se obtuvo una concentración teórica de 35,94  $\mu\text{L}/\text{mL}$  para alcanzar el 100% de eficacia.
- Las concentraciones de eugenol ensayadas no fueron efectivas, dieron resultados que no mostraban diferencias significativas con las plantas control. Por lo tanto, no se pudo obtener la curva

dosis respuesta para esta especie. Se deberían de utilizar dosis más altas para obtener un control de esta especie arvense.

En conclusión, este estudio aporta información sobre la efectividad y el potencial de los compuestos naturales carvacrol y eugenol como bioherbicidas para el control de plantas arvenses. Alguno de los resultados obtenidos subraya la importancia de explorar alternativas más sostenibles al uso de herbicidas químicos convencionales, que a menudo están asociados a impactos ambientales negativos. Por lo tanto, este trabajo abre nuevas vías de investigación y desarrollo de bioherbicidas basados en compuestos naturales, que podrían ser la clave de una agricultura más sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

## 7. BIBLIOGRAFÍA.

Ahuja, N.A., Batish, D.R., Singh, H.P., Kohli, R.K. (2015b). Herbicidal activity of eugenol towards some grassy and broad-leaf weeds. *Journal of Pest Science* 88, 209-218.

Ahuja, N.A., Singh, H.P., Batish, D.R., Kohli, R.K. (2015a). Eugenol-inhibited root growth in *Avena fatua* involves ROS-mediated oxidative damage. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 118, 64-70.

Bailey, K.L. (2014). Chapter 13- The bioherbicide approach to weed control using plant pathogens. *Integrated Pest Management*, 245-266.

Baker, H.G. (1974). The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5, 1-24.

Beckie, H.J., Jasieniuk, M. (2021). Chapter 12- *Lolium rigidum* and *Lolium multiflorum*. En: *Biology and Management of Problematic Crop Weed Species*, Ed. Singh Chauhan, B. Academic Press, pp. 261-283.

El Jaouhari, M., Damour, G., Tixier, P., Coulis, M. (2023). Glyphosate reduces the biodiversity of soil macrofauna and benefits exotic over native species in a tropical agroecosystem. *Basic and Applied Ecology* 73, 18-26.

González Ponce, R.G. (2006) Métodos para el control de malas hierbas:(I) Culturales, (II) Físicos y biológicos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Guanche García, A. (2012). Los abonos verdes. Ed. Agrocabildo.

Guzmán Casado, G.I., Alonso Mielgo, A.M. (2008). Buenas prácticas en producción ecológica: uso de abonos verdes. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Hasan, M., Ahmad-Hamdani, M.S., Rosli, A.M., Hamdan, H. (2021). Bioherbicides: An eco-friendly tool for sustainable weed management. *Plants* 10(6), 1212.

Herbari Virtual del Mediterrani Occidental. Fecha consulta:08/06/2024. Web: <https://herbarivirtual.uib.es/>.

Inda Aramendia, L.A. (2005). El género *Lolium*: Claves dicotómicas. *Revista de la Real Academia de Ciencias Zaragoza* 60, 143-155.

Kubiak, A., Wolna-Maruwka, A., Niewiadomska, A., Pilarska, A. A. (2022) Efficiency of certain herbicides and adjuvants combinations against weeds in wheat fields. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control* 13(1), 1-14.

MAAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente). (2015). Guía de Gestión Integrada de Plagas. Cereales de Invierno.

- Muñoz, M., Torres-Pagán, N., Peiró, R., Guijarro, R., Sánchez-Moreiras, A.M., Verdeguer, M. (2020). Phytotoxic effects of three natural compounds: Pelargonic Acid, carvacrol, and cinnamic aldehyde, against problematic weeds in Mediterranean crops. *Agronomy* 10(6), 791.
- Nation Library of Medicine. Fecha consulta: 01/08/2024. Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Peralta de Andrés, J., Royuela Hernando, M. (2018). *Flora Arvense de Navarra*. Universidad Pública de Navarra/Nafarroako Unibertsitate Publikoa.
- Pujadas Salva, A., Hernández Bermejo J.E. (1988). Floristic composition and agriculture importance of weeds in southern Spain. *Weed Research* 28(3), 175-180.
- Rojas-Sandoval, J., Acevo-Rodríguez, P., Popay, A.I. (2014). *Sonchus oleraceus* (common sowthistle). Caby digital Library: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompndium.50584>
- Sans Serra, F.X. (2016). *MÓDULO VIII-1-BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y CONTROL DE MALAS HIERBAS*.
- Sociedad Española de Malherbología (SEMh). Fecha de consulta: 13/05/2024. Web: <https://semh.net/>
- Spokas, K., Wang, D. (2003). Stimulation of nitrous oxide production resulted from soil fumigation with chloropicrin. *Atmospheric Environment* 37(25), 3501-3507.
- Tillett, N.D., Hague, T., Grundy, A.C., Dedousis, A.P. (2007). Mechanical within-row weed control for transplanted crops using computer vision. *Biosystems Engineering* 99, 171-178.
- Torres-Pagán, N., Muñoz, M., Barbero, S., Mamone, R., Peiró, R., Carrubba, A., Sánchez-Moreiras, A.M., Gómez de Barreda, D., Verdeguer, M. (2024). Herbicidal potential of the natural compounds carvacrol, thymol, eugenol, p-cymene, citral and pelargonic acid in field conditions: Indications for better performance. *Agronomy* 14(3), 537.
- Ubillos, M.A.M. (2000). Visión general sobre las malas hierbas. *Investigación humanística y científica en La Rioja: homenaje a Julio Luis Fernández Sevilla y Mayela Balmaseda Aróspide / Julio Luis Fernández Sevilla (hom.)*, 381-390.
- Ulanowska, M., Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol-A review. *International Journal of Molecular Sciences* 22(7), 3671.
- Valencia, F., Mas, N., Recasens, J. (2018). El uso de cubiertas vegetales y sus labores de implantación en el manejo de *Cynodon dactylon* en viñedo. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal* 297, 62-67.
- Zimmerman, W. (1976). *Evolución Vegetal*. Ed. Omega. Barcelona.

## Anejo I: Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030.

A. Indicar el grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

	Alto	Medio	Bajo	No procede
<b>ODS 1. Fin de la pobreza</b>				X
<b>ODS 2. Hambre cero</b>				X
<b>ODS 3. Salud y bienestar</b>				X
<b>ODS 4. Educación de calidad</b>				X
<b>ODS 5. Igualdad de género</b>				X
<b>ODS 6. Agua limpia y saneamiento</b>	X			
<b>ODS 7. Energía asequible y no contaminante</b>				X
<b>ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico</b>				X
<b>ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras</b>		X		
<b>ODS 10. Reducción de las desigualdades</b>				X
<b>ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles</b>		X		
<b>ODS 12. Producción y consumo responsables</b>	X			
<b>ODS 13. Acción por el clima</b>	X			
<b>ODS 14. Vida submarina</b>		X		
<b>ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres</b>		X		
<b>ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas</b>				X
<b>ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.</b>				X

B. Describir brevemente la alineación del TFM con los ODS, marcados en la tabla anterior, con un grado alto.

El TFM consiste en hacer un estudio sobre las dosis óptimas de aplicación de dos formulados de los herbicidas naturales carvacrol y eugenol con el objetivo de controlar el crecimiento de dos plantas arvenses. Es importante considerar que el uso excesivo de herbicidas en la agricultura ha provocado diversos impactos ambientales negativos, como el aumento de los gases de efecto invernadero en la atmosfera o la contaminación de los suelos. Al utilizar compuestos naturales, el impacto generado sobre el clima es menor cumpliendo el ODS 13.

En cuanto a la conexión del trabajo con el ODS 12, la utilización de bioherbicidas pueden llegar a ser tan eficientes como los herbicidas tradicionales. Asimismo, es un sistema de producción sostenible con el medio ambiente, ya que se extrae de productos naturales.

Diversos estudios han detectado la presencia de herbicidas en aguas superficiales y subterráneas como resultado de un uso excesivo, lo que puede llevar a la contaminación de los recursos hídricos, con efectos perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente. Los bioherbicidas se caracterizan por no permanecer activos durante periodos largos de tiempo. Por lo tanto, menos posibilidad de contaminar las aguas (ODS 6).