UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TRABAJO FINAL DE CARRERA DE LA TECNICATURA UNIVERSITARIA EN PARQUES Y JARDINES

EFECTO BIOHERBICIDA DEL EXTRACTO DE PROPÓLEOS, EL HIDROLATO DE ORÉGANO Y EL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO SOBRE LA GERMINACIÓN Y EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE LECHUGA (*Lactuca sativa*).

Julia Elena Roque

Docente tutor: Dra. Ivana Fernández Moroni

Docentes consejeros: Dra. María de las Mercedes Longás

Dra. Irene Laura Cibanal

2026

Índice

1. Agradecimientos 2

2. Publicación derivada 3

3. Resumen 4

4. Introducción 5

5. Objetivos 9

5.1. Generales 9

5.2. Específicos 9

6. Materiales y métodos 10

6.1. Material vegetal 10

6.2. PNB: procedencia, formulación y dosis 10

6.2.1. Formulaciones y dosis de los PNB 11

6.2.2. Controles metodológicos 12

6.3. Bioensayo con PNB 12

6.4. Parámetros determinados en el bioensayo 13

6.5. Análisis estadístico 14

7. Resultados 15

7.1. Acción fitotóxica sobre la germinación 15

7.2. Acción fitotóxica sobre el crecimiento de la plántula 15

7.3. Acción fitotóxica sobre el desarrollo inicial de la plántula 16

8. Discusión 19

8.1. Acción fitotóxica sobre la germinación 19

8.2. Acción fitotóxica sobre el crecimiento de la plántula 20

8.3. Acción fitotóxica sobre el desarrollo inicial de la plántula 21

9. Conclusiones 23

10. Bibliografía 24

1. Agradecimientos

Este trabajo final representa mucho más que la culminación de una etapa académica; es el resultado de un camino recorrido con esfuerzo, constancia y sobretodo, con el acompañamiento de muchas personas. En lo personal, iniciar esta carrera significó asumir nuevos desafíos, replantear tiempos y hábitos, animarme a aprender nuevamente. Nada de esto hubiera sido posible sin el apoyo incondicional de mi familia y de mis amigos, quienes estuvieron presentes con paciencia, palabras de aliento y comprensión en cada etapa del proceso.

Quiero agradecer a mi directora de tesina, la Dra. Ivana Fernández Moroni, por su acompañamiento, orientación y compromiso a lo largo de este trabajo. Su guía, predisposición y confianza fueron fundamentales para ordenar ideas y avanzar en cada etapa del proceso de investigación. Agradezco también a las Dras. María de las Mercedes Longás e Irene Cibanal, mis consejeras, por sus aportes, sugerencias y el apoyo brindado durante la realización de este trabajo.

Agradezco también a la Universidad Nacional del Sur, y en especial al Departamento de Agronomía por brindar el espacio académico, a los docentes de la Tecnicatura, quienes a lo largo de estos años compartieron generosamente sus conocimientos y experiencias. Su acompañamiento fue clave no solo en el desarrollo académico, sino en el fortalecimiento de una mirada crítica y responsable sobre la práctica profesional.

Quiero expresar también mi agradecimiento a mis compañeras de la Tecnicatura, sobre todo a Maru y Sofy, a Caro, con quienes tuve la suerte de compartir varias comisiones. Las experiencias compartidas, el compañerismo, el intercambio de saberes y el apoyo mutuo transformaron este recorrido en una vivencia enriquecedora, donde el aprendizaje trascendió lo académico y se volvió personal.

Este trabajo es, en gran medida, el reflejo de ese acompañamiento colectivo que me hizo posible llegar hasta aquí.

2. Publicación derivada

Los resultados de este Trabajo Final de Carrera han sido publicados en:

Roque J.E., Valladares M.E., Longás M.M., Cibanal I.L., Fernández Moroni I. (2026) Efecto bioherbicida del extracto de propóleos, el hidrolato de orégano y el aceite esencial de romero sobre la germinación y el desarrollo de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa*). V Congreso Argentino de Malezas (ASACIM). 2 y 3 de septiembre, Córdoba, Córdoba, Argentina. Pág. 222.

3. Resumen

El uso intensivo de herbicidas sintéticos para el control de plantas arvenses ha causado impactos negativos sobre el ambiente y la salud humana, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas de origen natural. En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto bioherbicida de tres productos naturales bioactivos (PNB): aceite esencial de romero (*Salvia rosmarinus*), hidrolato de orégano (*Origanum vulgare*) y extracto acuoso de propóleos, sobre la germinación, el crecimiento y desarrollo inicial de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa*).

El estudio se realizó sobre un ensayo *in vitro*, bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo. Semillas de lechuga se incubaron con dosis crecientes de cada PNB y con los controles metodológicos agua destilada (ADE) y ADE+Tween 20 (Tw). Al finalizar el ensayo se determinó el porcentaje de germinación, la proporción de plántulas normales y anormales, y la longitud de la radícula y del hipocótilo. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante ANAVA y la prueba de comparaciones múltiples de Fisher.

Los resultados mostraron que los tres PNB afectaron la germinación, el crecimiento y el desarrollo de las plántulas, con una respuesta dependiente del tipo de producto y la dosis aplicada. De los tres productos evaluados, el aceite esencial de romero produjo un mayor efecto inhibitorio sobre la germinación de lechuga. Con respecto al crecimiento y desarrollo de las plántulas, el extracto de propóleos fue el producto que más impacto negativo produjo. Por su parte el hidrolato de orégano tuvo un efecto moderado tanto en la germinación como en el crecimiento y desarrollo de las plántulas.

En conjunto, estos hallazgos destacan el potencial de los PNB como base para el desarrollo de bioherbicidas destinados a promover estrategias sustentables de manejo de arvenses.

4. Introducción

Desde que el ser humano comenzó a practicar la agricultura, los cultivos han estado expuestos a diversas amenazas, como insectos, enfermedades y la competencia con plantas arvenses (Freed, 1982). Las arvenses son plantas que crecen de manera natural y no planificada en un momento y entorno dado. Cuando estas plantas compiten por recursos esenciales como el agua, nutrientes, la luz solar y el espacio con las especies cultivadas, pudiendo afectar negativamente su crecimiento y/o la economía, el bienestar del ser humano, son denominadas malezas (Fernández et al., 2014). Por otro lado, pueden reducir la estética, es decir el valor ornamental del espacio afectando la percepción visual de orden y cuidado (Hitchmough, 2011). Además, pueden dificultar el uso de jardines y áreas verdes (Mortimer, 1996), afectando no solamente la producción vegetal sino también la salud y la calidad de vida de las personas al producir alergias respiratorias (Beggs, 2004), irritaciones cutáneas, ser refugio de roedores y serpientes en zonas rurales o periurbanas (Zimdahl, 2018).

Ante esta problemática, en las últimas décadas, el manejo de malezas se ha basado principalmente en el control químico mediante el uso de herbicidas sintéticos, debido a su elevada eficacia y facilidad de aplicación. Sin embargo, el uso excesivo ha favorecido la selección de biotipos tolerantes y/o resistentes a ciertos principios activos (Tuesca et al., 2010). Además, el empleo generalizado de herbicidas y su uso inadecuado puede causar problemas a la salud humana y al medio ambiente (Da Mastro et al., 2006). En Argentina anualmente se aplican elevados niveles de herbicidas por unidad de superficie (Hulme, 2023). Algunos de estos productos se han detectado en ríos, arroyos y fuentes de agua potable en diversas regiones del país (Aparicio y De Gerónimo, 2024; Mayora et al., 2024). En este contexto, existe un gran interés por estudiar productos herbicidas de origen natural que ofrezcan una alternativa de bajo riesgo para la salud y el medio ambiente (Hasan et al., 2021).

En este marco resultan interesantes los compuestos alelopáticos que producen algunas plantas, y que son capaces de disminuir el crecimiento e incluso inhibir el desarrollo de otras especies vegetales (Verdeguer et al., 2020). Los aleloquímicos son, en su mayoría, producto del metabolismo secundario y median las relaciones ecológicas de las plantas con su entorno. De este modo, estas sustancias actúan como repelentes frente a otras plantas, lo que las convierte en una posible alternativa como fuente de herbicidas de origen natural (Ormaza, 2017). Cabe destacar que este tipo de sustancias naturales suelen provocar menos problemas ambientales y hacia la salud humana (Da Mastro et al., 2006; Tuesca et al., 2010).

Entre los metabolitos secundarios con acción alelopática se encuentran los aceites esenciales, muchos de los cuales poseen propiedades herbicidas comprobadas (Tworkoski, 2002; Verdeguer et al., 2011). Estos compuestos pueden provocar alteraciones severas en el ADN, en los procesos bioquímicos y en las funciones celulares de las plantas, lo que eventualmente puede conducir a su muerte (Roberts et al., 2022).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos mayormente terpenoides y, en gran proporción, volátiles, responsables de sus propiedades aromáticas y biológicas (Bakkali et al., 2008). Se obtienen a partir de distintas partes de las plantas, como hojas, semillas, flores, cortezas, raíces o frutos, mediante métodos de extracción tales como la destilación por arrastre de vapor, la extracción en frío o el uso de solventes (Burt, 2004). De la hidrodestilación de aceites esenciales se obtiene como subproducto una sustancia acuosa denominada hidrolato que normalmente contiene los principales principios activos presentes en los aceites de origen, aunque en concentraciones menores (Torres, 2017; Rosinka, 2022).

En este contexto, la familia Lamiácea constituye una de las principales productoras de aceites esenciales. Entre sus especies se destacan el orégano (*Origanum vulgare* L.) y el romero (*Salvia rosmarinus* Spenn), de elevado interés agroecológico (Vigan, 2010), ya que poseen compuestos con marcada actividad biocida.

El romero es un arbusto medicinal y aromático, con hojas coriáceas de color verde oscuro (Fig. 1). Su aceite esencial es de color amarillo claro, está compuesto mayormente por 1,8-cineol, α-pineno y alcanfor. Existen antecedentes que declaran que el aceite esencial de romero tiene un fuerte efecto inhibidor sobre la germinación de semillas de *Solanum lycopersicum* y *Amarantus retroflexus* (Hazrati et al., 2018).

Figura 1: Planta de romero (*Salvia rosmarinus* Spenn).
Fuente: elaboración propia

Por su parte, el orégano es una planta herbácea perenne, aromática, caracterizada por tallos erectos cuadrangulares y hojas ovaladas con pelos glandulares que contienen aceite esencial. Además, es ampliamente cultivada como condimento y planta medicinal (Kintzios, 2002) (Fig. 2). Las principales sustancias activas de su aceite esencial son carvacrol y timol. Estos metabolitos presentan propiedades antioxidantes, antibacterianas y antifúngicas (Khan et al., 2018). También, se han reportado estudios sobre el hidrolato de orégano en los que se comprobó la bioactividad de estos

compuestos (Khan et al., 2018; Bairamis et al., 2024). Asimismo, investigaciones recientes destacan la acción bioherbicida preemergente del aceite esencial de orégano sobre especies arvenses como *A. retroflexus* y *Chenopodium album*, sin afectar de manera considerable el desarrollo de cultivos acompañantes (Synowiec et al., 2019).

Figura 2: Planta de orégano (*Origanum* sp).
Fuente: elaboración propia.

Así como los aceites esenciales son compuestos naturales con acción biocida es interesante mencionar al propóleos (Fig. 3). Este producto es elaborado por las abejas a partir de resinas de plantas y ceras producidas por ellas mismas, ha demostrado causar efectos inhibitorios sobre la germinación y el desarrollo de plántulas, gracias a los metabolitos secundarios vegetales que posee (King Díaz et al., 2015; Lima Lanna et al., 2020; Roberts et al., 2022).

Figura 3: Propóleos bruto.
Fuente: Cibanal, (2023).

Por lo expuesto anteriormente, los productos naturales mencionados ofrecen una alternativa interesante a los herbicidas convencionales. Sin embargo, para generalizar su uso es necesario el estudio previo de su comportamiento bajo distintas situaciones. Los ensayos *in vitro* permiten evaluar de manera reproducible la fitotoxicidad y la

eficacia de estos productos naturales, aportando información clave para su uso potencial para el desarrollo de bioherbicidas preemergentes para huertos y jardines agroecológicos.

Para este fin, la lechuga (*Lactuca sativa* L.; Fig. 4) es una especie adecuada para la evaluación de nuevos herbicidas, debido a su elevada sensibilidad a los efectos fitotóxicos y su ciclo corto de crecimiento (Sobrero y Ronco, 2004). Pertenece a la familia de las Asteráceas, al igual que varias malezas importantes pertenecientes a los géneros *Senecio sp*. y *Conyza sp*. presentes tanto en la Argentina como en diversas partes del mundo (Fernández et al., 2016).

Figura 4: Lechuga (*Lactuca sativa* L.)
Fuente: INFOJARDIN

5. Objetivos

5.1. General

Estudiar las propiedades fitotóxicas de tres productos naturales bioactivos (PNB): el aceite esencial de romero, el hidrolato de orégano y el extracto de propóleos sobre la germinación y el desarrollo inicial de lechuga.

5.2. Específicos

5.2.1. Determinar el efecto de diferentes dosis de los PNB propuestos sobre la germinación de lechuga.

5.2.2. Evaluar el efecto de diferentes dosis de los PNB sobre el crecimiento de la radícula y el hipocótilo de lechuga.

5.2.3 Evaluar el efecto de diferentes dosis de los PNB sobre el desarrollo de las plántulas de lechuga.

6. Materiales y métodos

El presente ensayo se realizó en el Laboratorio de Estudios Apícolas, en el Laboratorio de Fisiología Vegetal y en el Laboratorio de Malezas, pertenecientes al Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur, en Bahía Blanca, Argentina.

A continuación, se detalla el material vegetal utilizado, los PNB, los tratamientos propuestos, los parámetros evaluados y el protocolo utilizado durante el ensayo.

6.1. Material Vegetal

La experiencia se realizó con semillas de lechuga (*L. sativa* L.) compradas en marzo de 2024 en el establecimiento comercial "Huerta y Campo" de la ciudad de Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

Se seleccionaron semillas completas, sanas y de tamaño uniforme. Para ello se descartaron las semillas vanas, aquellas que presentaban algún defecto y las que tenían dimensiones extremas, muy chicas o grandes (Fig. 5).

Figura 5: Elección y conteo de semillas de lechuga.
Fuente: elaboración propia.

6.2. PNB: procedencia, formulación y dosis

Se evaluó la acción fitotóxica de tres PNB, aceite esencial de romero, hidrolato de orégano y extracto de propóleos.

A continuación, se describe su procedencia:

1. Aceite esencial de romero, producido y destilado en el Establecimiento Skua, en la ciudad de Azul, Provincia de Buenos Aires, Argentina (Fig. 6 A);

2. Hidrolato de orégano, elaborado por la Cooperativa Aromáticas del Alto Valle, situada en General Fernández Oro, Provincia de Río Negro, Argentina (Fig. 6 B); y

3. Extracto de propóleos, confeccionado con propóleos en bruto proveniente de un apiario cercano a la ciudad de Río Colorado, Provincia de Río Negro, Argentina (Fig. 6 C).

Figura 6: Productos naturales bioactivos utilizados. A: Aceite esencial de romero; B: Hidrolato de orégano; C: Extracto de propóleos. Fuente: elaboración propia.

6.2.1 Formulaciones y dosis de los PNB:

1. Aceite esencial de romero (Ro)

- Dosis: 0,25 %; 0,5 %; 1 % y 2 % del producto original (Fig. 7).

Para obtener una mezcla homogénea de Ro en agua, se utilizó en cada preparado Tween 20 (Biopack) en una proporción igual a la de aceite. El uso del Tween favorece la emulsión del aceite esencial con el agua, ya que es una sustancia anfipática, tiene características lipofílicas e hidrofílicas (TK Group, s.f.). Cada dilución se agitó por unos minutos en vortex para lograr homogeneizarlo.

2. Hidrolato de orégano (HO)

- Dosis: 25 %; 50 %; 75 % y 100 % del producto original (Fig. 7).

Los preparados acuosos de HO se realizaron sin el agregado de coadyuvantes. Luego de aplicar la dosis correspondiente de HO, se agitó por unos minutos en vortex para lograr homogeneizarlo.

3. Extracto acuoso de propóleos (PRO)

- Dosis: 25 %; 50 %; 75 % y 100 % del extracto acuoso (Fig. 7).

El PRO se formuló a partir de extracto seco que se obtuvo mediante la desolventización de una solución hidroalcohólica (70 % etanol y 30 % agua destilada) al 10 % del propóleos bruto. La desolventización se realizó en una estufa a 40 ± 2 °C, con el

objetivo de eliminar el alcohol que podría tener efecto fitotóxico. Para preparar el PRO, el extracto seco se mezcló con agua en un baño termostatizado a 92 °C con agitación continua a 80 RPM, durante 15 min. Luego, se llevó a un agitador magnético a 700 RPM durante 15 minutos y finalmente fue sonicado durante 15 minutos. Esta metodología se adaptó de Bucio-Villalobos y Martínez-Jaime (2017) y Bankova et al., (2021). Las dosis se elaboraron a base del PRO.

6.2.2. Controles metodológicos

Como controles metodológicos se incluyeron un tratamiento con agua destilada estéril (ADE) y otro con Tween 20 al 2 % (Tw) (Fig. 9), la máxima concentración usada en los preparados de Ro. El control con Tween 20 se hizo con el objetivo de descartar algún posible efecto fitotóxico del Tween sobre la germinación y/o desarrollo de las plántulas.

Figura 7: Tubos Eppendorf con los tratamientos utilizados. Fuente: elaboración propia.

Se utilizó agua destilada esterilizada en autoclave para preparar los tratamientos y controles utilizados.

6.3. Bioensayo con PNB

Se realizó un bioensayo de germinación y crecimiento de plántulas de lechuga en cajas de Petri, considerándose cada caja como una unidad experimental (UE). En cada UE, se cultivó un grupo de 30 semillas de lechuga sobre dos láminas de papel

absorbente (Fig. 8 A). Asimismo, se dispusieron cuatro UE para cada tratamiento y controles metodológicos. Cada UE fue regada por única vez con 4 ml del tratamiento correspondiente. Se emplearon jeringas individuales para cada PNB, teniendo la precaución de comenzar el riego con los preparados de menor concentración en cada caso. Las UE se dispusieron al azar en una cámara de cultivo a 20 °C con fotoperíodo de 12 h (Fig. 8 B). En total, el ensayo contó con 56 UE (N=56, 14 tratamientos * 4 repeticiones) que se dispusieron siguiendo un diseño completamente aleatorizado.

Previo a la siembra, las cajas de Petri fueron desinfectadas con alcohol al 96 % y las láminas de papel absorbente se esterilizaron sometiéndolas a 100 °C por tres días en estufa.

El ensayo finalizó a los seis días de armados los germinadores.

Figura 8: A: disposición de las semillas en las unidades experimentales (UE); B: disposición aleatorizada de las UE en la cámara de cultivo. Fuente: elaboración propia.

6.4. Parámetros determinados en el bioensayo

Al concluir el ensayo se determinó:

-Cantidad de semillas germinadas. Se contabilizó como germinada a la semilla que presentó la radícula visible. Los resultados se expresaron como porcentaje de germinación calculados sobre el total de las semillas sembradas.

-Longitud de radícula, desde la base del hipocótilo hasta el ápice radicular, y longitud del hipocótilo, desde la base del hipocótilo hasta el ápice de la plúmula (Fig. 9 C), en cinco plántulas tomadas al azar de cada réplica para cada uno de los tratamientos.

-Cantidad de plántulas anormales respecto al total de plántulas desarrolladas. Se definió como plántula normal a aquella que mostró un desarrollo equilibrado y

completo de órganos esenciales (radícula, hipocótilo y/o cotiledones), con coloración y forma características de un crecimiento saludable (Fig. 9 A). Por el contrario, se consideró plántula anormal a la que presentó atrofia radicular, zonas necrosadas, deformaciones severas en cotiledones, hipocótilo y/o radícula (Fig. 9 B).

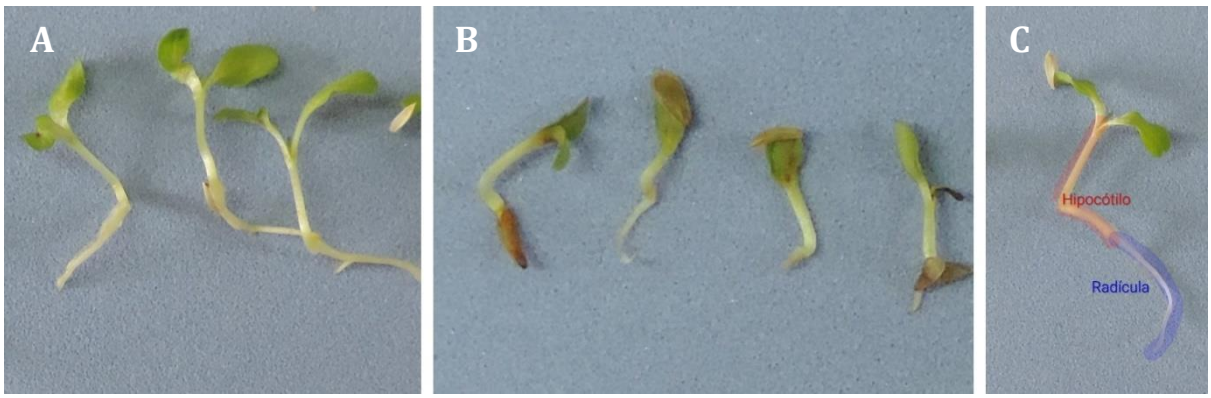


Figura 9: Imagen representativa de plántulas de lechuga. A: Normales; B: Anormales, de izquierda a derecha: dos plántulas con cambios en la relación parte aérea:radicular; siguientes dos con zonas necrosadas en cotiledones; C: Normal, en la que se destaca la radícula e hipocótilo. Fuente: elaboración propia.

6.5. Análisis estadístico

El bioensayo se realizó siguiendo un diseño simple, totalmente aleatorizado, con cuatro réplicas por tratamiento.

El largo del hipocótilo y radícula fue determinado mediante el programa informático Image J®. Los resultados fueron graficados utilizando el software GraphPad Prism 8.0.1. Los parámetros estimados se analizaron mediante el programa estadístico Infostat® (Di Rienzo et al., 2010). Los datos cumplían con los supuestos de homocedasticidad y normalidad. Por ello, cada población de datos se comparó mediante ANAVA seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Fisher (LSD, α=5 %) si se encontraban diferencias estadísticas.

7. Resultados

7.1. Acción fitotóxica sobre la germinación

En los controles, sin PNB, el porcentaje de germinación de las semillas de lechuga cultivadas fue mayor al 90 %, inclusive en el control con Tween.

Por otro lado, la germinación de lechuga fue afectada negativamente por las tres sustancias testeadas, disminuyendo a medida que se incrementó la dosis ($P<0,05$). El grado de inhibición dependió del PNB y de la dosis aplicada (Fig. 10).

Las dosis más altas de PRO e HO redujeron la germinación más de un 60 % respecto del control ADE (Fig. 10 A; Fig. 10 B). Por su parte, la germinación fue menor al 10 % con Ro al 1 % y se inhibió completamente con Ro al 2 % ($p<0,0001$, Fig. 10 C).

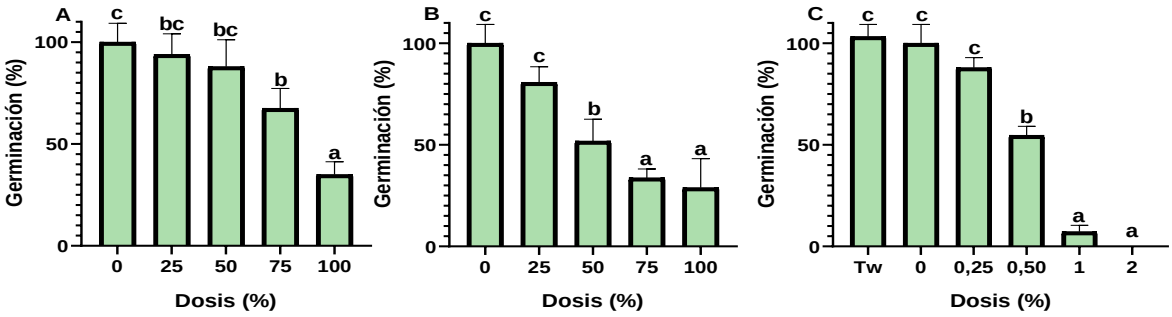


Figura 10: Germinación (%) de *L. sativa* bajo un gradiente de dosis creciente de: A: propóleos; B: hidrolato de orégano y C: aceite esencial de romero. Letras distintas denotan diferencias significativas según la prueba LSD ($P<0,05$). Las líneas verticales sobre las barras indican el error estándar.

7.2. Acción fitotóxica sobre el crecimiento de la plántula

El crecimiento de la radícula y del hipocótilo se redujo cuando se aplicaron PNB al medio de cultivo. El grado de restricción dependió del PNB y, a medida que aumentó la dosis aplicada de cada PNB, el efecto perjudicial sobre el crecimiento se incrementó (Fig. 11).

El PRO causó mayor efecto restrictivo sobre el crecimiento de la radícula que del hipocótilo en las dosis más bajas (PRO25 y PRO50). Las dosis más altas, PRO75 y PRO100, redujeron severamente el crecimiento de toda la plántula (Fig. 11 A y D).

A diferencia del PRO, el HO causó mayor restricción del crecimiento del hipocótilo que de la radícula y todas las dosis tuvieron un efecto restrictivo similar sobre el crecimiento (Fig. 11 B y E).

Con respecto al Ro, no fue eficaz para reducir el crecimiento del hipocótilo o la radícula de las plantas cultivadas en las dosis más bajas (Ro 0,25). Aunque, a dosis de Ro 0,5 el largo de la radícula y el hipocótilo se redujo más de un 30 % respecto al control

ADE. En dosis más altas, hubo una fuerte inhibición de la germinación, y por consiguiente, no se registró crecimiento de las plántulas (Fig. 11 C y F).

El control metodológico con Tween 20 no modificó el crecimiento de las plántulas (Fig. 11 C y F).

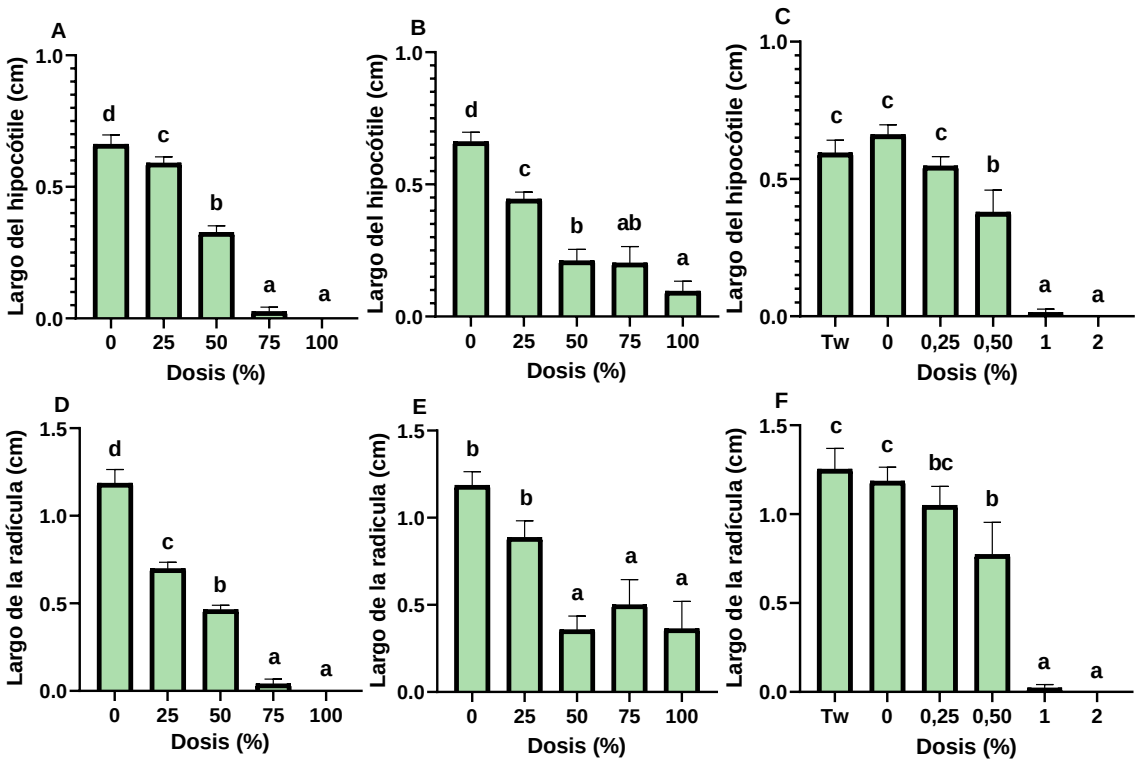


Figura 11: Largo (cm) de hipocótilo (A, B y C) y radícula (D, E y F) de plántulas de lechuga cultivadas bajo dosis crecientes de propóleos (A y D), hidrolato de orégano (B y E) y aceite esencial de romero (C y F). Letras distintas denotan diferencias significativas según la prueba LSD (P<0,05). Las líneas verticales sobre las barras indican el error estándar.

7.3. Acción fitotóxica sobre el desarrollo inicial de las plántulas

Independientemente del producto utilizado, el porcentaje de plántulas anormales aumentó a medida que se incrementó la dosis del PNB. Las dosis más bajas de PRO, HO y Ro produjeron un incremento superior al 50 % en la proporción de plántulas anormales respecto del control con ADE, en el que solo el 10 % de las plántulas presentó algún tipo de defecto (Fig. 12). En las dosis más elevadas de PRO y Ro, el 100 % de las plántulas desarrolladas presentó anormalidades.

En el control Tw también se observó un incremento de aproximadamente el 25 % en la incidencia de las alteraciones.

Las plántulas tratadas con PRO presentaron una reducción del crecimiento y zonas de necrosis principalmente en la radícula, aunque también se observaron áreas necrosadas en los cotiledones y otras alteraciones morfológicas (Fig. 13 A).

Las plántulas cultivadas con HO presentaron un desbalance entre el crecimiento radicular y caulinar, particularmente en las concentraciones más elevadas. Asimismo, se observó una disminución de la coloración verde de los cotiledones y la presencia de zonas necrosadas en diferentes tejidos (Fig. 13 B).

Por su parte, el Ro produjo una marcada disminución en el desarrollo general de las plántulas, y se observó necrosis en ápices radiculares y en cotiledones (Fig. 13 C).

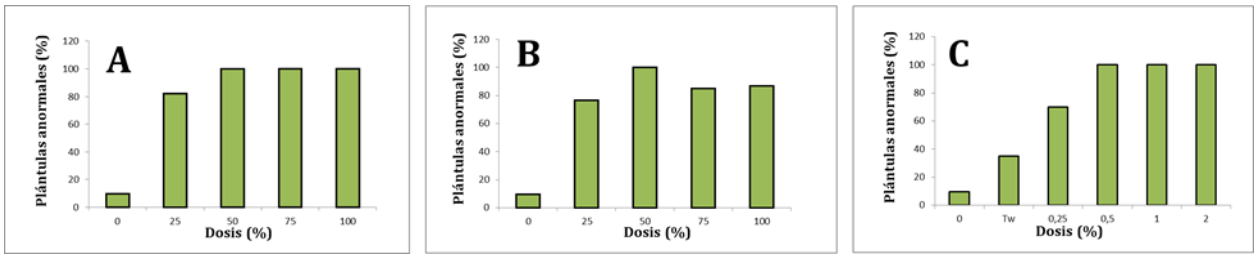
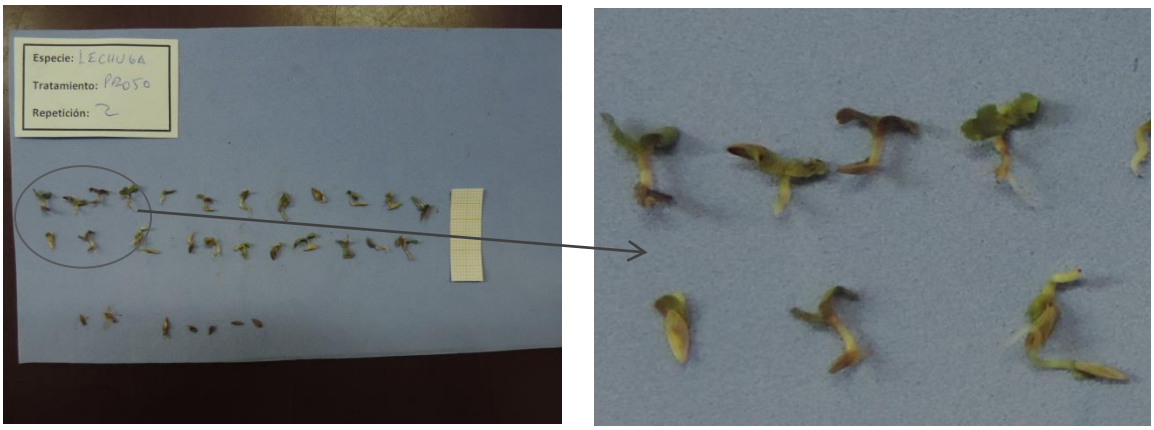
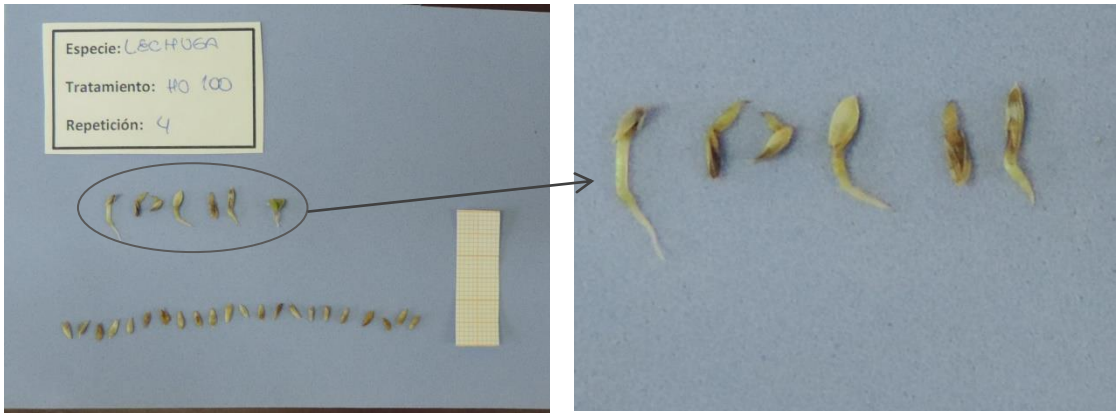


Figura 12: Porcentaje de plántulas anormales de lechuga cultivadas bajo dosis crecientes de: (A) extracto de propóleos, (B) hidrolato de orégano y (C) aceite esencial de romero.

A



B



C

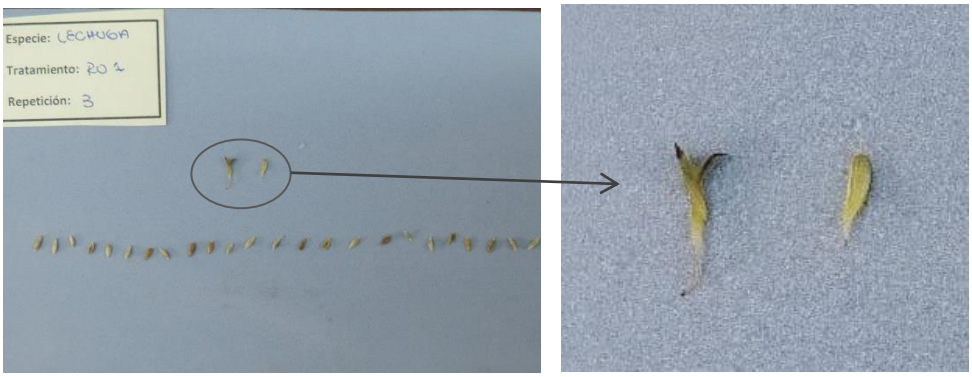


Figura 13: Imágenes representativas de las anomalías del desarrollo observadas en plántulas de lechuga luego del cultivo con diferentes PNB: (A) extracto de propóleos al 50 %, (B) hidrolato de orégano al 100 % y (C) aceite esencial de romero al 1 %. A la derecha de cada foto, se presenta una vista ampliada de las plántulas anormales identificadas. En ellas se observa: (A) desequilibrio morfológico entre la parte aérea y el sistema radicular; (B) inhibición severa del desarrollo general de la plántula acompañado de necrosis focalizada; (C) presencia de zonas necrosadas específicamente en los ápices de la radícula y de los cotiledones.

8. Discusión

8.1. Acción fitotóxica sobre la germinación

El efecto fitotóxico del aceite esencial de romero (Alipour y Shaharkhiz, 2016; Elghobashy et al., 2024), de orégano (Ibáñez y Blazquez, 2017) y de extracto de propóleos (Sorkun et al., 1997) sobre la germinación ha sido documentado en distintas especies vegetales, tanto silvestres como domesticadas. Los efectos fitotóxicos de estos PNB dependen de múltiples factores, entre ellos la dosis aplicada, la forma de aplicación, la especie vegetal evaluada y la composición química (quimiotipo).

En el presente trabajo, el mayor efecto inhibitorio sobre el desarrollo de las plántulas se observó con el aceite esencial de romero. La germinación se redujo en más del 90 % con la dosis del 1 %, y se inhibió completamente bajo la dosis más elevada. En otros ensayos en los que utilizaron dosis similares de aceite esencial de romero también reportaron un marcado efecto inhibitorio sobre la germinación de *Raphanus sativum, Echinochloa cruz-galli* y *L. sativa* (Angelini et al., 2003; Hazrati et al., 2018).

En cambio, las dosis máximas de extracto de propóleos y de hidrolato de orégano presentaron un efecto restrictivo menor que el observado con el aceite esencial de romero, registrándose valores de germinación superiores al 25 % bajo las dosis más altas. Los hidrolatos son subproductos obtenidos durante la destilación de plantas para la elaboración de aceites esenciales. Se trata de soluciones acuosas que contienen pequeñas cantidades de los principales compuestos presentes en los aceites de las especies de origen (Bairamis et al., 2024; Tavares, 2022). Una menor concentración de compuestos bioactivos podría explicar el bajo efecto fitotóxico observado sobre la germinación. El aceite esencial de orégano presenta propiedades fitotóxicas ampliamente reconocidas, especialmente los quimiotipos ricos en carvacrol (Ibáñez y Blázquez, 2020). La utilización de hidrolatos de orégano como agente fitotóxico no se ha documentado hasta este momento.

En cuanto a la acción fitotóxica de los propóleos, se han reportado resultados concordantes con los obtenidos en este ensayo con propóleos de diferente origen geográfico. Pereira et al., (2017; 2021) demostraron que distintos propóleos y geopropóleos brasileños inhibieron la germinación de diversas especies arvenses, observándose distinta sensibilidad según la especie evaluada y la muestra de propóleos utilizada. Asimismo, se registraron efectos restrictivos sobre la germinación de lechuga al utilizar compuestos volátiles (Fernandes-Silva et al., 2015) y propóleos brasileños incorporados al medio de cultivo (Mayworm et al., 2017). De manera similar, Sorkun et al., (1997) obtuvieron resultados comparables al evaluar propóleos provenientes de Turquía sobre semillas de trigo (*Titricum aestivum*).

8.2. Acción fitotóxica sobre el crecimiento de la plántula

Los PNB evaluados también ejercieron un efecto fitotóxico sobre el crecimiento de la radícula y la plúmula de aquellas plántulas que lograron desarrollarse. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en estudios previos, en los que se utilizaron propóleos (Pereira et al., 2017; Heghedűş-Mîndru et al., 2024), aceite esencial de romero (Angelini et al., 2003) y aceite esencial de orégano (Ibáñez y Blázquez, 2020; Hazrati et al., 2018; Kordali et al., 2022) como potenciales agentes bioherbicidas frente a especies cultivadas y espontáneas. En el presente estudio se observó que, independientemente del PNB evaluado, este efecto restrictivo sobre el crecimiento aumentó con las dosis, evidenciando una respuesta dosis-dependiente.

No obstante, también se han reportado respuestas contrastantes: Pereira et al. (2021) observaron que, para algunos propóleos evaluados, si bien el aumento de la dosis en el medio de germinación restringió el crecimiento de las plántulas de *Mimosa púdica*, promovió el crecimiento en *Senna obtusifolia*. El grado de estimulación o inhibición dependió de la muestra de propóleos utilizada, lo que resalta la importancia de su composición química. La estimulación del crecimiento de plántulas también ha sido documentada tras la aplicación de aceites esenciales, aunque generalmente a dosis inferiores a las empleadas en el presente estudio. Kazem Souria y Bakhtiarizade (2019) registraron un incremento del crecimiento radicular en tomate al aplicar aceite esencial de romero al 0,05 y 0,1 %.

En particular, los preparados a base de propóleos e hidrolato de orégano provocaron una mayor restricción del crecimiento de las plántulas que de la germinación. Entre estos PNB, el propóleos mostró un efecto inhibitorio superior al del hidrolato. La aplicación de dosis de 75 % y 100 % del extracto redujo la elongación de la radícula y la plúmula en más del 30 %. Resultados similares fueron reportados por Sorkun et al. (1997), quienes observaron que preparados de propóleos producidos en Turquía redujeron la división celular en ápices radiculares de trigo, con un efecto perjudicial creciente a medida que aumentaba la concentración.

Los propóleos contienen una amplia variedad de compuestos bioactivos provenientes del metabolismo secundario vegetal, principalmente terpenos y fenoles, cuya composición específica depende de la flora disponible durante la recolección por parte de las abejas (Cibanal et al., 2017; Garcia Paoloni, 2022; Kasote et al., 2022). King Díaz et al., (2015) observaron que los flavonoides presentes en el propóleos redujeron la elongación radicular y plumular en semillas germinadas de *Lolium perenne* y *E. cruz-galli*, aunque no en *Physalis ixocarpa*. Mayworm et al. (2017) también observaron una reducción dosis-dependiente del crecimiento radicular de lechuga tratada con extracto de propóleos, compuesto principalmente por terpenos.

En relación con los hidrolatos, su bajo contenido de compuestos bioactivos podría explicar el menor efecto fitotóxico observado. Si bien el hidrolato mostró una acción fitotóxica moderada, es un subproducto de la elaboración del aceite esencial que se

obtiene en grandes cantidades y por esta razón suele ser económico. Lo que podría constituir un recurso importante como bioherbicida.

El aceite esencial de romero también redujo el crecimiento de las plántulas; sin embargo, la restricción del crecimiento en las dosis donde se registró germinación fue menor que la observada con los otros PNB. La dosis que redujo la germinación en un 50 % (0,5 %) restringió menos del 40 % el crecimiento de radículas e hipocótilos. De forma concordante, Ibáñez y Blázquez (2020) señalaron que el aceite esencial de romero fue menos eficaz para reducir el crecimiento de plántulas de tomate (*S. lycopersicum*) que los aceites de *O. vulgare*, *Melaleuca alternifolia, Eucalyptus globulus* y *O. majorana.* Por otro lado, El-Mahdi et al. (2020) y Ben Kaab et al. (2019) también observaron que la acción fitotóxica fue mayor sobre la germinación que sobre el crecimiento de las plántulas de *L. perenne*, *A. retroflexus, Silybum marianum* y *Phalaris minor* al aplicar aceite esencial de romero al medio de germinación. Por el contrario, Caputo et al. (2018) reportaron que concentraciones de 100 mg ml^{-1} de aceite esencial de romero aumentaron la elongación radicular en *Ruta graveolens*, aunque la restringieron en *R. sativus* y *L. sativa.*

8.3. Acción fitotóxica sobre el desarrollo inicial de la plántula

Además de los efectos perjudiciales sobre la germinación y el crecimiento, observados principalmente en las dosis más elevadas, los PNB indujeron alteraciones morfológicas en órganos esenciales para el establecimiento de las plántulas.

En las dosis más bajas de los tres PNB, la proporción de plántulas anormales se incrementó en más de 500 % respecto del control con agua. Las plántulas que presentan alteraciones durante las etapas tempranas del desarrollo tienen una menor probabilidad de establecerse y desarrollarse adecuadamente, debido a que estas alteraciones pueden comprometer su capacidad de adaptación y su aptitud competitiva (Waterworth & West, 2023).

Las plántulas tratadas con PRO presentaron un marcado desbalance morfológico, caracterizado por una mayor inhibición del crecimiento de la radícula que del hipocótilo. La mayor sensibilidad del sistema radical podría estar relacionada con la elevada actividad metabólica de los meristemas radiculares y con su contacto directo con los compuestos bioactivos presentes en el medio de cultivo desde las primeras etapas posteriores a la germinación. En concordancia con esta respuesta, Sorkun et al. (1997) reportaron que extractos de propóleos turcos redujeron la división celular en los ápices radicales de *T. aestivum,* y observaron un incremento del efecto perjudicial a medida que aumentaba la concentración aplicada.

Las plántulas tratadas con HO también presentaron un desbalance morfológico, aunque en este caso la restricción del crecimiento fue más pronunciada en el hipocótilo. Asimismo, se observaron clorosis y necrosis localizada en los cotiledones. Resultados similares fueron reportados por Araniti el al. (2018), quienes observaron que la

aplicación de aceite esencial de orégano sobre rosetas de *Arabidopsis thaliana* produjo una marcada reducción del crecimiento y la aparición de hojas cloróticas.

Por su parte, el Ro provocó una marcada inhibición del desarrollo general de las plántulas, acompañada de necrosis localizada en los ápices de la radícula y la plúmula. Debido a su elevada actividad metabólica y a la intensa división celular que tiene lugar en estas regiones, los tejidos meristemáticos pueden presentar una elevada sensibilidad a compuestos con actividad fitotóxica. La respuesta observada podría estar relacionada con la acción de los monoterpenos presentes en el aceite esencial de romero, cuyos efectos fitotóxicos pueden involucrar alteraciones en la integridad de las membranas celulares, interferencias en la respiración celular y la inhibición de procesos de división y elongación celular en tejidos meristemáticos (Verdeguer et al., 2020).

La presencia de Tween podría haber contribuido a potenciar la acción fitotóxica del Ro, dado que se observó un mayor porcentaje de plántulas anormales en el control que contenía este tensioactivo al 2 % respecto del control con agua. Watson et al., (1980) observaron que Tween 20 incrementó la pérdida de compuestos celulares en protoplastos de avena a concentraciones superiores al 0,01 %, lo que sugiere que este tensioactivo puede afectar la permeabilidad de las membranas celulares. Asimismo, Hurtt y Hodgson (1987) demostraron que Tween 20 y Tween 80 podían estimular, inhibir o no modificar la germinación, dependiendo de la especie y de las condiciones de cultivo. Más estudios sobre la interacción entre Ro y Tween son necesarios para establecer el rol de cada uno en el desarrollo de plántulas de lechuga.

9. Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que:

Los tres productos naturales bioactivos evaluados, aceite esencial de romero, extracto de propóleos e hidrolato de orégano, presentan actividad fitotóxica sobre la germinación, el crecimiento y el desarrollo inicial de plántulas de lechuga.

Los efectos observados fueron dependientes del tipo de compuesto y de la dosis aplicada.

El aceite esencial de romero fue el PNB que mostró el mayor efecto depresor sobre la germinación, alcanzando una inhibición total a la dosis más elevada.

El extracto de propóleos se caracterizó por restringir el crecimiento de las plántulas que se desarrollaron.

El hidrolato de orégano mostró un efecto fitotóxico moderado sobre la germinación, el crecimiento y el desarrollo de las plántulas en comparación con los otros PNB, aunque su acción no resultó despreciable.

En conjunto, los resultados respaldan el potencial de estos productos naturales como agentes bioherbicidas, especialmente para su uso en huertas, jardines y sistemas productivos de pequeña escala, en reemplazo de herbicidas sintéticos.

No obstante, dado que los ensayos se realizaron sólo con lechuga, en condiciones controladas de laboratorio, es necesario continuar investigando su efecto en otras especies vegetales, considerar diferentes modos de aplicación, así como evaluar posibles interacciones entre compuestos y su comportamiento en condiciones de mayor complejidad ambiental, con el fin de determinar con mayor precisión su aplicabilidad.

10. Bibliografía

Alipour, M., & Saharkhiz, M. J. (2016). Actividad fitotóxica y variación en el contenido y composición del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) durante diferentes etapas fenológicas de crecimiento. *Biocatálisis y biotecnología agrícola, 7*, 271–278.

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.

Aparicio, V. C., & De Gerónimo, E. (2024). Contaminación por pesticidas en el agua potable argentina: Un llamado a garantizar un acceso seguro. *Environmental Challenges, 14*, 100808. https://doi.org/10.1016/j.envc.2023.100808

Araniti, F., Landi, M., Lupini, A., Sunseri, F., Guidi, L., & Abenavoli, M. R. (2018). *Origanum vulgare* essential oils inhibit glutamate and aspartate metabolism altering the photorespiratory pathway in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of Plant Physiology, 231*, 297–309. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.10.006

Bairamis, A., Sotiropoulou, N.-S. D., Tsadila, C., Tarantilis, P., & Mossialos, D. (2024). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils and hydrosols from oregano, sage and pennyroyal against oral pathogens. Applied Sciences, 14(8), 3238. https://doi.org/10.3390/app14083238

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils — A review. *Food and Chemical Toxicology, 46*(2), 446–475. https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106

Bankova, V., Trusheva, B., & Popova, M. (2021). Propolis extraction methods: A review. *Journal of Apicultural Research, 60*(5), 734–743.

Beggs, P. J. (2004). Impacts of climate change on aeroallergens: Past and future. *Clinical & Experimental Allergy, 34*(10), 1507–1513. https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.02061.x

Ben Kaab, S., Rebey, I. B., Hanafi, M., Berhal, C., Fauconnier, M. L., De Clerck, C., Ksouri, R., & Jijakli, H. (2019). *Rosmarinus officinalis* essential oil as an effective antifungal and herbicidal agent. *Spanish Journal of Agricultural Research, 17*(2).

Bucio-Villalobos, C. M., & Martínez-Jaime, O. A. (2017). Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleos del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. Agronomía Mesoamericana, 28(1), 223-227.

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223–253. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022

Caputo, L., Trotta, M., Romaniello, A., & De Feo, V. (2018). Chemical composition and phytotoxic activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Natural Product Communications, 13*(10), 1367–1370. https://doi.org/10.1177/1934578x1801301033

Cibanal, I. L., Krepper, G., Fernández, L. A., & Gallez, L. M. (2017). Caracterización fisicoquímica de propóleos argentinos para su uso como biofungicida agrícola. En *IV Congreso Internacional Científico y Tecnológico-CONCYT 2017*.

Cibanal, I. L. (2023). Estudio del extracto de propóleos y del aceite esencial de orégano para el control de fitopatógenos de importancia en la producción hortícola [Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur]. Repositorio Institucional Digital de la

Universidad Nacional del Sur. https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/6574

Da Mastro, G., Fracchiolla, M., Verdini, L., & Montemurro, P. (2006). Oregano and its potential use as bioherbicide. En: *I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation* (Acta Horticulturae, 723) (pp. 335–346). International Society for Horticultural Science. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.723.46

Di Rienzo, J., Balzarini, M., Gonzalez, L., Casanoves, F., Tablada, M., & Walter-Robledo, C. (2010). Infostat: software para análisis estadístico. Universidad Nacional de Córdoba, (Argentina). https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/10346.

Elghobashy, R. M., El-Darier, S. M., Atia, A. M., & Zakaria, M. (2024). Allelopathic Potential of Aqueous Extracts and Essential Oils of *Rosmarinus officinalis L.* and *Thymus vulgaris L. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 24*(1), 700–715. https://doi.org/10.1007/s42729-023-01576-x

El Mahdi, J., Tarraf, W., Ruta, C., Piscitelli, L., Aly, A., & De Mastro, G. (2020). Bio-herbicidal potential of the essential oils from different *Rosmarinus officinalis* L. chemotypes in laboratory assays. *Agronomy, 10*(6), 775. https://doi.org/10.3390/agronomy10060775

Fernández, O., Leguizamón, E. S., Acciaresi, H. A., Troiani, H. O. & Villamil, C. B. (2014). Malezas e Invasoras de la Argentina. Tomo I: *Ecología y manejo*. Ediuns.

Fernández, O., Leguizamón, E. S., Acciaresi, H. A., Troiani, H. O., & Villamil, C. B. (2016). Malezas e invasoras de la Argentina. Tomo II: *Descripción y reconocimiento*. EdiUNS.

Fernandes-Silva, C. C., Lima, C. A., Negri, G., Salatino, M. L., Salatino, A., & Mayworm, M. A. (2015). Composition of the volatile fraction of a sample of Brazilian green propolis and its phytotoxic activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 95*(15), 3091–3095.

Freed, V. H. (1982). What are pesticides and how are they used? In J. E. Davies, V. H. Freed, & F. W. Whittemore (Eds.), *An agromedical approach to pesticide management: Some health and environmental considerations* (pp. 17–49). University of Miami School of Medicine.

Garcia Paoloni, M. S. (2022). Propóleos. Buenas prácticas de producción. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. http://hdl.handle.net/20.500.12123/13319

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. https://doi.org/10.3390/plants10061212

Hazrati, H., Saharkhiz, M. J., Moein, M. R., & Khoshghalb, H. (2018). Phytotoxic effects of several essential oils on two weed species and tomato. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 13, 204–212. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.12.014

Heghedűş-Mîndru, G., Glevitzky, M., Heghedűş-Mîndru, R. C., Dumitrel, G. A., Popa, M., Glevitzky, I., Obiştioiu, D., Cocan, I., & Vică, M. L. (2024). Inhibitory effects and composition analysis of Romanian propolis: Applications in organic and sustainable agriculture. *Plants, 13*(23), 3355. https://doi.org/10.3390/plants13233355

Hitchmough, J. (2011). Exotic plants and plantings in the sustainable, designed urban landscape. *Landscape and Urban Planning, 100*(4), 380–382. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2011.02.017

Hulme, P. E. (2023). Weed resistance to different herbicide modes of action is driven by agricultural intensification. *Field Crops Research, 292*, Article 108819. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2023.108819

Hurtt, W., & Hodgson, R. H. (1987). Effects of nonionic surfactants, temperature, and light on germination of weed seeds. *Weed Science, 35*(1), 52–57. https://doi.org/10.1017/S0043174500026771

Ibáñez, M. D., & Blázquez, M. A. (2017). Herbicidal value of essential oils from oregano-like flavour species. *Food and Agricultural Immunology*, *28*(6), 1168–1180. https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1332010

Ibáñez, M. D., Blázquez, M. A. (2020) Phytotoxic effects of commercial essential oils on selected vegetable crops: Cucumber and tomato. *Sustainable Chemistry and Pharmacy* 15. https://doi.org/10.1016/j.scp.2019.100209

Kasote, D., Bankova, V., & Viljoen, A. M. (2022). Propolis: Chemical diversity and challenges in quality control. *Phytochemistry Reviews, 21*, 1887–1911. https://doi.org/10.1007/s11101-022-09816-1

Kazem Souria, M., & Bakhtiarizade, M. (2019). Biostimulation effects of rosemary essential oil on growth and nutrient uptake of tomato seedlings. *Scientia Horticulturae, 243*, 472–476. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.056

Khan, M., Khan, S. T., Khan, N. A., Mahmood, A., Al-Kedhairy, A. A., & Alkhathlan, H. Z. (2018). The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(8), 1189–1200. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.02.008

King-Díaz, B., Granados-Pineda, J., Bah, M., Rivero-Cruz, J. F., & Lotina-Hennsen, B. (2015). Mexican propolis flavonoids affect photosynthesis and seedling growth. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 151, 213–220. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.08.019

Kintzios, S. E. (Ed.). (2002). Oregano: The genera Origanum and Lippia. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. CRC Press / Taylor & Francis.

Kordali, S., Kabaagac, G., Sen, İ., Yilmaz, F., & Najda, A. (2022). Efectos fitotóxicos de extractos y aceite esencial de tres especies de *Origanum* sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de cuatro especies de malezas. *Agronomy, 12*(10), 2581. https://doi.org/10.3390/agronomy12102581

Lima Lanna, N. de B., Martins Bardiviesso, E., Santivañez Aguilar, A., Ayala Pérez, C. P., Contreras, S., Nakada-Freitas, P. G., & Inácio Cardoso, A. I. (2020). Uso de la temperatura y propóleos en el tratamiento alternativo de semillas de calabacín. Idesia (Arica), 38(4), 83–88. https://doi.org/10.4067/S0718-34292020000400083

INFOJARDIN. Ficha de lechuga *(Lactuca sativa).* https://archivo.infojardin.com/tema/ficha-de-lechuga-lactuca-sativa.375025/ (Acceso julio 2026)

Mayora, G., Sagardoy, M. E., Repetti, M. R., Paira, A., Frau, D., & Gutierrez, M. F. (2024). Spatiotemporal patterns of multiple pesticide residues in central Argentina streams. *Science of The Total Environment, 906*, 167014. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167014

Mayworm, M. A. S., dos Santos, A. B., Melo-de-Pinna, G. F. A., Salatino, A., Salatino, M. L. F., & Demarco, D. (2017). Monoterpenes from the essential oil from Brazilian propolis

affect seedling cellular elongation. *Brazilian Journal of Botany, 40*(3), 609–615. https://doi.org/10.1007/s40415-017-0366-3

Mortimer, A. M. (1996). La clasificación y ecología de las malezas. En R. Labrada, J. C. Caseley & C. Parker (Eds.), Manejo de malezas para países en desarrollo (Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, 120, 13–30).

Ormaza-Molina, A. K. (2017). Capacidad de inhibición de cuatro extractos de arvenses y mucílago de cacao *Theobroma cacao* sobre *Rottboellia exaltata* y *Eleusine indica* (Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Quevedo-Los Ríos-Ecuador). Repositorio Institucional UTEQ. https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3289

Pereira, D. S., Holanda-Neto, J. P., Oliveira, M. S., Pereira, N. S., Maracajá, P. B., & Souza Filho, A. P. S. (2017). Phytotoxic potential of the geopropolis extracts of the jandaira stingless bee (*Melipona subnitida*) in weeds. *Revista Caatinga, 30*(4). https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n407rc

Pereira, D. S., de Oliveira, M. S., Cruz, J. N., do Nascimento Bezerra, P., Gomes da Silva, A., Pereira, N. S., Ports, P. S., da Silva Souza Filho, A. P., Borges Maracajá, P., Oliveira Freitas, M., & Alves Freitas, C. I. (2021). Herbicidal potential (phytotoxic) of honey bee propolis extracts of the Brazilian northeast on weeds of cultivated pastures. *Journal of Apicultural Research*. https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1957611

Roberts, J., Florentine, S., Fernando, W. G. D., & Tennakoon, K. U. (2022). Achievements, developments and future challenges in the field of bioherbicides for weed control: A global review. *Plants, 11*(17), 2242. https://doi.org/10.3390/plants11172242

Rosińska, A. (2022). Evaluation of the use of oregano and coconut hydrolates to improve onion seed quality. *Agronomy, 12*(10), 2478. https://doi.org/10.3390/agronomy12102478

Sobrero, M. C., & Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *(Lactuca sativa L.)*. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

Sorkun, K., Bozcuk, S., Gömürgen, A. N., & Tekin, F. (1997). An inhibitory effect of propolis on germination and cell division in the root tips of wheat seedlings. En A. Mizrahi & Y. Lensky (Eds.), *Bee products* (pp. 317–321). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9371-0_17

Synowiec, A., Możdżeń, K., Krajewska, A., Landi, M., & Araniti, F. (2019). Carum carvi L. essential oil: A promising candidate for botanical herbicide against *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. in maize cultivation. *Industrial Crops and Products*, *140*, 111652.

Tavares, C. S., Gameiro, J. A., Roseiro, L. B., et al. (2022). Hydrolates: A review on their volatile composition, biological properties, and potential uses. *Phytochemistry Reviews, 21*, 1661–1737. https://doi.org/10.1007/s11101-022-09803-6

TK Group. (s.f.). *Polysorbate 20 (Tween 20)*. Tamin Kala Tak. https://taminkalatak.com/product/polysorbate-20-tween-20/

Torres, L., Díaz Vizcaíno, E. A., & Rigueiro, A. (2017). La evaluación del desarrollo inicial de plántulas contribuye a la determinación de la potencialidad bioherbicida de aceites e hidrolatos de especies aromáticas. En *Actas del XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología* (Pamplona-Iruña, 25-27 oct. 2017). Universidad Pública de Navarra / Nafarroako Unibertsitate Publikoa.

Tuesca, D. I., Nisensohn, L., Sabbatini, M. R., & Chantre Balacca, G. R. (2010). Resistencia de malezas a herbicidas: evolución y estrategias de manejo. En *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II* (pp. 619–626). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Tworkoski, T. (2002). *Herbicide effects of essential oils*. Weed Science, 50(4), 425–431. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0425:HEOEO]2.0.CO;2

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(1), 403–411. https://doi.org/10.3390/molecules16010403

Verdeguer, M., Sánchez-Moreiras, A. M., & Araniti, F. (2020). *Phytotoxic effects and mechanism of action of essential oils and terpenoids*. Plants, 9(11), 1571. https://doi.org/10.3390/plants9111571

Vigan, M. (2010). Essential oils: Renewal of interest and toxicity. European Journal of Dermatology, 20(6), 685–692. https://doi.org/10.1684/ejd.2010.1066

Waterworth, W. M., & West, C. E. (2023). Genome damage accumulated in seed ageing leads to plant genome instability and growth inhibition. *Biochemical Journal, 480*(7), 461–470. https://doi.org/10.1042/BCJ20230006

Watson, M. C., Bartels, P. G., & Hamilton, K. C. (1980). Action of selected herbicides and Tween 20 on oat (*Avena sativa*) membranes. *Weed Science, 28*(1), 122–127. https://doi.org/10.1017/S0043174500027910

Zimdahl, R. L. (2018). *Fundamentals of Weed Science* (5th ed.). Academic Press.