AyTBUAP 6(24):114-127
Andrango Ñacato & Changoluisa Alvear, 2021
http://doi.org/10.5281/zenodo.5676421
https://eoi.citefactor.org/10.11235/BUAP.06.24.05

Evaluación del efecto alelopático y actividad plaguicida producido por el aceite esencial de anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f)

Evelyn Andrango Ñacato* iD, Alisson Changoluisa Alvear** iD.

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, Carrera de Ingeniería en Biotecnología, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Quito, Ecuador.

Email autores corresponsales: *erandrango1@espe.edu.ec; **adchangoluisa1@espe.edu.ec

Recibido: 12 mayo 2021. **Aceptado:** 29 septiembre 2021

RESUMEN

Introducción. Los aceites esenciales han sido muy estudiados en los últimos años gracias a sus diversas aplicaciones, entre las cuales están la acción plaguicida y su utilización como bioplaguicida natural, esta es una buena alternativa para remplazar los productos químicos, ya que gracias a sus constituyentes monoterpenos y sesquiterpenos se han evidenciado toxinas de acción rápida contra insectos, que pueden incluir la disuasión y la repelencia, logrando resultados positivos para el control de plagas. **Objetivo.** Evaluar el efecto alelopático y la actividad plaguicida producidos por el aceite esencial de anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f). **Metodología.** Se extrajo aceite esencial empleando 427,51 g de frutos secos de anís estrellado. Para la prueba cualitativa de alelopatía se realizó germinación *in vitro* de semillas de lechuga teniendo un grupo control y un grupo de ensayo durante siete días. Además, se realizó una prueba cuantitativa para evaluar la actividad plaguicida del aceite esencial utilizando cámaras húmedas en donde se colocaron 12 pulgones y una hoja fresca por cada frasco con concentraciones del aceite esencial de 0, 0.2, 0.5 y 0.8 % v/v. Para la medición de la variable respuesta se utilizó el programa Image J versión 1.8.0 y el análisis estadístico se hizo en el software estadístico InfoStat versión 2017.1.2. realizando un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cuatro tratamientos (T1, T2, T3, T4), dos controles (CE y CAE) y cuatro réplicas por cada tratamiento. **Resultados y Discusión.** Se obtuvieron 4 mL de aceite esencial con un rendimiento de 0.936 %. En el análisis fitoquímico se encontraron los siguientes metabolitos: α–terpineno, eugenol, linalol, 1,8-cineol, p-anisaldehído, limoneno y anetol. De acuerdo a los resultados obtenidos, en la prueba

cualitativa se observa el efecto alelopático al inhibir la germinación de las semillas de lechuga a comparación del grupo control. A partir del ensayo cuantitativo se observa que el aceite esencial de anís estrellado posee una buena actividad plaguicida, ya que se observó un menor % de daño al tratar las hojas con bajas concentraciones de aceite esencial (0.2 %), además hubo diferencias entre las muestras y los controles, indicando que los resultados fueron específicamente por el aceite esencial y no por factores externos como el daño oxidativo sobre la hoja por el tiempo de estudio y los componentes del aceite esencial.

Palabras clave: aceite esencial; efecto alelopático; *Illicium verum*; plaguicida natural.

ABSTRACT

Introduction. Essential oils have been widely studied in recent years thanks to their various applications, among which are the pesticide action and its use as a natural biopesticide, this is a good alternative to replace chemical products, since thanks to its monoterpene constituents and Sesquiterpenes have shown fast-acting toxins against insects, which can include deterrence and repellency, achieving positive results for pest control. **Objective.** To evaluate the allelopathic effect and the pesticidal activity produced by the essential oil of star anise (*Illicium verum* Hook. F). **Methodology.** Essential oil was extracted using 427.51 g of star anise nuts. For the qualitative allelopathy test, *in vitro* germination of lettuce seeds was carried out, having a control group and a test group for seven days. In addition, a quantitative test was carried out to evaluate the pesticidal activity of the essential oil using humid chambers where 12 aphids and a fresh leaf were placed for each bottle with concentrations of the essential oil of 0, 0.2, 0.5 and 0.8% v/v. For the measurement of the response variable, the Image J program version 1.8.0 was used and the statistical analysis was done in the statistical software InfoStat version 2017.1.2. performing a completely randomized design (DCA) with four treatments (T1, T2, T3, T4), two controls (CE and CAE) and four replications for each treatment. **Results and Discussion.** Four mL of essential oil were obtained with a yield of 0.936%. In the phytochemical analysis the following metabolites were found: α-terpinene, eugenol, linalol, 1,8-cineole, p-anisaldehyde, limonene and anethole. According to the results obtained, in the qualitative test the allelopathic effect is observed by inhibiting the germination of lettuce seeds compared to the control group. From the quantitative test it is observed that the essential oil of star anise has a good

pesticidal activity, since a lower% of damage was observed when treating the leaves with low concentrations of essential oil (0.2%), in addition there were differences between the samples and the controls, indicating that the results were specifically for the essential oil and not for external factors such as oxidative damage on the leaf due to the study time and the essential oil components.

Keywords: essential oil; allelopathic effect; *Illicium verum*; natural pesticide.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son compuestos volátiles fuertemente aromáticos que son producidos por organismos vivos y son obtenidos de una planta entera o parte de esta mediante procesos físicos como la extracción por arrastre de vapor [1]. Las moleculas que componen los aceites esenciales son conocidas como metabolitos secundarios y pueden estar formados por terpenos, fenoles, aldehidos, cetonas, taninos y alcaloides, estos componentes se encargan de defender a las plantas de infecciones por patógenos microbianos y de la digestión por herbívoros. Se sintetizan en pequeñas cantidades y son producidas por especies especificas [2].

La destilación por arrastre con vapor es la técnica más utilizada, en la cual factores como el tamaño de partícula del material vegetal y el tiempo de extracción influyen en la composición y rendimiento del producto adquirido [3]. Los aceites esenciales poseen puntos de ebullición elevados y son insolubles en agua, sin embargo, se pueden separar de su fuente natural usando el punto de ebullición del agua; ya que el vapor de agua va arrastrando estos componentes [4]. El vapor asciende y rompe las células que contienen los aceites esenciales en la muestra vegetal, este vapor se condensa y por diferencia de pesos moleculares el aceite esencial se deposita en la parte superior de la columna condensada [5]. El vapor condensado que se obtiene junto con el aceite esencial es llamado agua floral o hidrolato. Este subproducto posee una pequeña concentración de los compuestos solubles del aceite escencial, es por esto que tiene un aroma ligero similar al aceite obtenido [6].

En la evolución de las comunidades de plantas existe interferencia química o alelopatía que tiene lugar cuando metabolitos producidos por una planta tienen efectos sobre el crecimiento de otras plantas. Los productos aleloquímicos pueden estimular o inhibir el crecimiento de otras plantas que crecen en su proximidad [7]. La fitotoxicidad de una molécula incrementa según la cantidad de grupos hidroxilos y carbonilos, de igual manera las plantas que

producen lactonas sesquiterpénicas inhiben el crecimiento y germinación de plantas aledañas ya que estos compuestos afectan la síntesis de ADN y ARN.

METODOLOGÍA

Extracción de aceite

Para la extracción del aceite esencial, se pesaron 427.51 g de frutos secos de anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f) triturados, luego la muestra se colocó en un matraz de destilación y se llenó a 3/4 partes de su volumen, se conectó la trampa de destilación Dean Stark sobre el balón junto con el refrigerante y se colocó en la manta de calentamiento durante 1 hora, controlando la temperatura para evitar la formación de burbujas de ebullición. Finalmente, el aceite obtenido fue colocado en un frasco ámbar y el hidrolato se recolectó en un frasco transparente [8].

Para determinar los componentes del aceite esencial se realizó una cromatografía de capa fina, utilizando como fase sólida una placa de silica gel y como fase móvil se ocupó tolueno y acetato de etilo en proporción 93:7, la cual fue elegida debido a la polaridad que presentan los componentes del aceite esencial y el hidrolato. La muestra se colocó en la placa de silica gel con ayuda de un tubo capilar. A continuación se colocó la placa de silica gel al interior de la cámara cromatográfica que contenía la fase móvil y se esperó que el solvente recorriera la placa arrastrando las sustancias apolares y separando los componentes [8]. Para determinar los componentes que se encontraban en el aceite esencial se midieron los valores del factor de retardo (Rf) que representa la distancia que recorre un analito sobre la fase estacionaria respecto a la distancia que recorre la fase móvil en la cromatografía [9]. Estos valores obtenidos se compararon con valores teóricos de Rf para el aceite esencial de anís (*Illicium verum* Hook. f) [10].

Prueba cualitativa de alelopatía

La prueba cualitativa se desarrolló para evaluar el efecto alelopático de los componentes del aceite esencial de anís estrellado encontrados a partir de la cromatografía de capa fina como el eugenol, linalol, limoneno, anetol, cineol, anisaldehído y terpineno. Con el fin de comprobar la actividad del aceite esencial para su posterior uso en el ensayo cuantitativo, se utilizó la prueba de germinación [11], en la que se utilizaron 32 semillas certificadas por Agripac S.A de lechuga (*Lactuca sativa* L.) e hidrolato obtenido a partir de la extracción de aceite esencial por el método de destilación por arrastre de vapor [3].

Se realizaron dos ensayos sin replicación, utilizando agua destilada e hidrolato obtenido al 100%. La metodología se adaptó del estudio realizado por Hernández [12] y Gonzáles [13], para lo cual se utilizaron dos cajas cubiertas con papel filtro y se colocaron 16 semillas de lechuga en cada caja. Posteriormente, se añadieron 5 mL de agua destilada (Control) e hidrolato (Ensayo) según corresponda (Anexo 1). El ensayo tuvo una duración de siete días de los cuales se tomaron anotaciones diarias del desarrollo cualitativo observado en la germinación de las semillas (Tabla 3).

Prueba Cuantitativa de la actividad plaguicida

La prueba cuantitativa se desarrolló para evaluar la actividad plaguicida del aceite esencial en cámara húmeda, en la cual se utilizaron 48 hojas frescas y sin daños, como plaga se utilizaron un aproximado de 480 pulgones (*Aphis gossypii*) mezclados entre ninfas y hembras ápteras, las cuales se identificaron según su morfología [14]. Dichos organismos fueron recolectados de un huerto ubicado en el sector de Fajardo, en la Parroquia de Sangolquí perteneciente al Cantón Rumiñahui, en la Provincia de Pichincha-Ecuador [15].

Para el ensayo de la prueba cuantitativa de la actividad plaguicida se utilizó la metodología de Bravo [15], con condiciones adaptadas. Ésta se realizó a partir de cámaras húmedas, en el que se utilizaron veinte frascos de vidrio de 250 mL, realizando cuatro replicas por cada tratamiento. Para la construcción de las cámaras se colocaron en el fondo de cada recipiente, una capa de papel absorbente, el cuál fue humedecido con 5 mL de agua destilada. Después, se colocó una hoja fresca de arveja (*Pisum sativum* L.) completamente entera y un aproximado de doce pulgones entre ninfas y hembras ápteras por cada frasco. Los recipientes se mantuvieron en un lugar fresco y fueron cubiertos con una gasa para permitir el ingreso de aire a su interior y evitar la salida de la plaga (Anexo 2).

Además, se realizaron tres diluciones del aceite esencial (0, 0.2, 0.5 y 0.8 % v/v) utilizando Tween 20 al 0.1% v/v en un total de 10 mL por cada dilución. Se realizaron tres tratamientos con aceite esencial y se obtuvieron dos muestras control, una en base a Tween 20 al 0.1% y la otra en base a hidrolato al 100%, las muestras control se utilizaron para demostrar la efectividad del ensayo, en cuanto al daño provocado por el pulgón sobre la hoja, descartando daño por contacto con los componentes del aceite esencial y por humedad. Las cantidades de aceite utilizados para cada concentración se presentan en la tabla 1, los cuales se aplicaron a diario a razón de un golpe de atomizador (0.2 mL) por cada frasco.

Tabla 1. Preparación de diluciones de aceite esencial de anís estrellado a diferentes concentraciones y Tween 20 al 0.1%.

Tratamiento	Concentración (v/v) %	Aceite esencial de anís estrellado (mL)	Hidrolato (mL)	Tween 20 al 0.1% (mL)	Agua destilada
Control CA	1	0	0	0	10
Control CAE	1	0	10	0	0
T1	0	0	0	10	0
T2	0.2	0.02	0	9.98	0
T3	0.5	0.05	0	9.95	0
T4	0.8	0.08	0	9.92	0

Nota: Cada una de las diluciones preparadas y las muestras control se colocaron en atomizadores plásticos de 10 mL y fueron almacenados en refrigeración a -4°C. CA: Control con agua destilada; CAE: Control con hidrolato.

Finalmente, para el análisis estadístico se procedió a medir el porcentaje de daño causado por la plaga en la hoja, a partir del programa de procesamiento de imagen digital Image J versión 1.8.0, en el cual se midió el área inicial y final de las hojas en pixeles para conseguir los resultados en milímetros cuadrados y obtener el porcentaje de daño recibido en las hojas de cada tratamiento. Para el diseño experimental se utilizó el Diseño Completamente Aleatorizado (DCA). En donde el factor de estudio se representa como las concentraciones preparadas de aceite esencial (0.2, 0.5 y 0.8 % v/v) y las muestras control. La variable de respuesta es el porcentaje del efecto causado por la plaga en cada hoja para cada tratamiento [16].

Los datos obtenidos en este ensayo se analizaron a través de un análisis de media con la prueba Shapiro-Wilks para comprobar si el diseño sigue una distribución normal. Luego se analizó la homocedasticidad de la muestra utilizando un análisis de varianzas mediante la prueba de Levene. Finalmente se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para lo cual se utilizó el software estadístico InfoStat versión 2017.1.2.

RESULTADOS

Extracción del aceite esencial

Se obtuvieron 4 ml de aceite esencial con un rendimiento de 0.936 %. El rendimiento se calculó mediante la siguiente ecuación [17]:

% rendimiento = [(Volumen del aceite obtenido/masa de la muestra seca) ∗ 100]

En donde el volumen del aceite obtenido fue de 4 mL y la masa de la muestra seca fue de 427.51 g. Con el aceite obtenido se realizó una cromatografía de capa fina, que tuvo como objetivo determinar los metabolitos secundarios presentes en la especie vegetal a estudiar. Se compararon los valores de Rf obtenidos con los valores de Rf teóricos (Tabla 2).

Tabla 2. Factores de retardo (Rf) obtenidos a partir de las muestras tomadas por cromatografía. Fase sólida: Silica gel. Fase móvil: Tolueno: Acetato de etilo (93:7). Revelado: Anisaldehído y ácido sulfúrico.

Muestra	Rf Teórico	Rf Experimental	Componente	Cromatografía
1	0,25	0,25	α –terpineno	
2	0,30	0,31	Eugenol	
3	0,4	0,38	Linalol	
4	0,43	0,44	1,8-cineol	
5	0,50	0,51	p-anisaldehído	
6	0,84	0,83	Limoneno	
7	0,94	0,93	Anetol	

Nota: Valores de Rf teórico adaptado de Thorburn [10].

Prueba cualitativa de alelopatía

La prueba cualitativa se realizó durante siete días y se comparó el efecto alelopático del hidrolato obtenido de la extracción del aceite esencial de anís estrellado a partir de una prueba de germinación usando dos tratamientos control y ensayo como se puede ver en la tabla 3.

Prueba cuantitativa de la actividad plaguicida

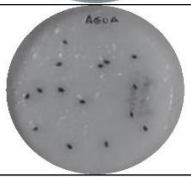
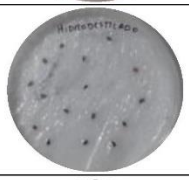
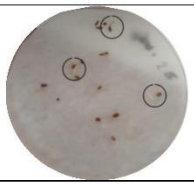
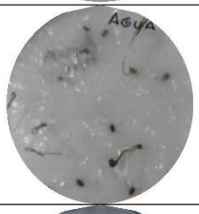
En acuerdo con el experimento planteado en el anexo 2, se observó que los pulgones afectan a las hojas durante el experimento, ya que se alimentan de ellas.

Se analizaron los resultados por separado para ver la influencia de la concentración de aceite esencial según los tratamientos aplicados (Figura 1).

En la comparación del porcentaje de área afectada por cada tratamiento, se observó que el tratamiento T1 con una concentración de aceite esencial nula tuvo un 6% de área afectada, en el tratamiento T2 con 0.2 % de aceite esencial existe un menor porcentaje de área afectada con respecto al resto de tratamiento. El tratamiento T3 y T4 presentan un 23 y 27 % de área afectada respectivamente. Pese a que los tratamientos T3 y T4 contenían aceite esencial, esta concentración influyó en el daño que tenían las hojas.

Según los análisis estadísticos realizados se puede observar que las diferentes concentraciones de aceite esencial aplicadas en las hojas frescas de arveja influyen en el porcentaje de daño causado en la hoja, evidenciando mayor efectividad el tratamiento con la menor concentración de aceite esencial T2 (Tween 20: Aceite esencial (100:0.2)).

Tabla 3. Evaluación del efecto alelopático del hidrolato de anís estrellado (Illicium verum Hook. f) en semillas lechuga (*Lactuca sativa* L.).

Tiempo (días)	Observaciones		Fotografías	
	Control	Ensayo	Control	Ensayo
0	Se incrementó gradualmente el tamaño del 50% de semillas.	No presentó cambios.		
1	Se incrementó gradualmente el tamaño del 93% de semillas.	No presentó cambios.		
2	Se inició el crecimiento del eje embrionario del 50% de las semillas en las cuales se observó la abertura del endospermo.	Se observó un incremento leve en el tamaño 81% de las semillas.		
3	El 50% de las semillas formó una pequeña radícula y el otro 50% empezaron con la ruptura del endospermo.	No hubo cambios en ninguna de las semillas.		
4	Se dio el alargamiento de las raíces en el 50% de las semillas	El 25% de las semillas presentaron crecimiento radicular pequeño y el 75% de las semillas restantes permanecieron con una leve hinchazón.		
5	El 100% de las semillas continúan el proceso de germinación.	Aumentó el número de semillas con crecimiento radicular leve del 25% al 30%		
6	Se observó un mayor crecimiento en los tallos del 50%.	Alargamiento leve de las raíces del 25% de semillas		
7	Crecimiento en longitudes de tallos y raíces del 100% de las semillas	Crecimiento radicular leve y formación de tallo primario en el 31% de las semillas.		

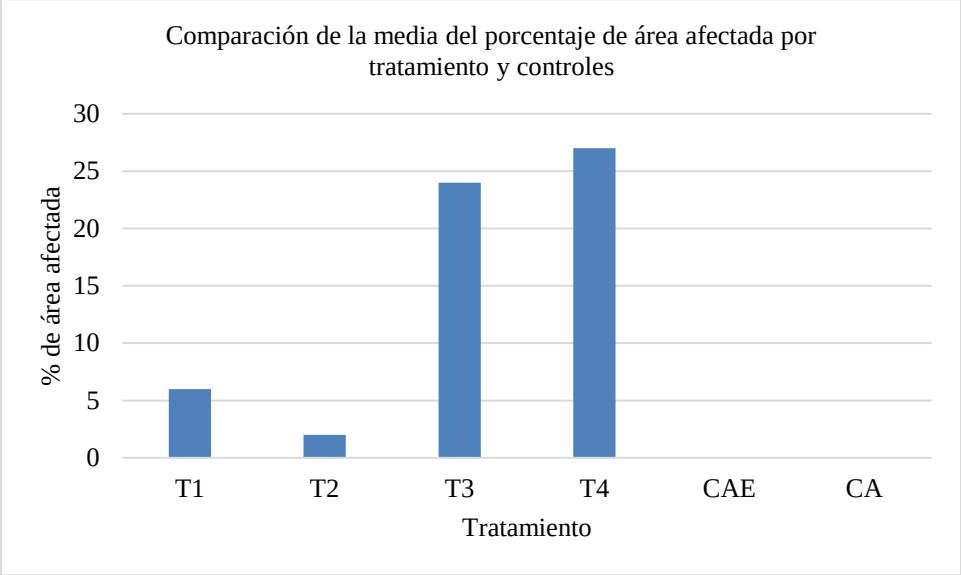


Figura 1. Comparación entre las concentraciones de aceite esencial de anís estrellado aplicado en hojas de arveja. T1: 0 %, T2: 0.2 %, T3: 0.5 %, T4: 0.8 %, CA: Control con agua destilada; CAE: Control con hidrolato.

DISCUSIÓN

El rendimiento del aceite esencial de anís se encuentra entre el 2 y 3 %, si el anís se encuentra en su etapa madura [18], en el presente trabajo el rendimiento obtenido del anís en su etapa madura fue de 0.936 %, valor que se encuentra muy por debajo de los valores de referencia. La composición del aceite esencial varía según diferentes factores como el tipo de suelo, método de cultivo, época de recolección, manejo, almacenamiento, material vegetal, edad de la planta y método de obtención del aceite. En la cromatografía realizada en silica gel se muestran componentes como: eugenol, linalol, cineol, anisaldehido, limoneno y anetol [19]. Para estimar la concentración presente de cada componente se puede aplicar la técnica de cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC). Sin embargo, en este trabajo no se presentan estos resultados por el alto costo que implica realizar este proceso.

La inhibición del crecimiento provocado por la liberación de compuestos químicos interfiere en el desarrollo de la especie vegetal, impidiendo su supervivencia, dando lugar al efecto alelopático negativo [12]. De los resultados obtenidos en el ensayo cualitativo (Tabla 3) se evidencia que al poner en contacto el hidrolato obtenido de la extracción del aceite esencial y las semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) existe un efecto alelopático negativo, ya que interfirió en el crecimiento radicular de las semillas, generando el retardo de su germinación y crecimiento [20]. Según

investigaciones anteriores [21,22], los monoterpenos pueden inhibir la mitosis, alterar la permeabilidad de la membrana y el balance hormonal de plantas, conducir a anomalías del crecimiento e inhibir la respiración de las mitocondrias aisladas, dando como resultado un porcentaje de germinación muy bajo y lento. Por lo tanto, a partir de esta prueba se verifica la actividad del aceite esencial para su uso en los ensayos posteriores, ya que al usar hidrolato, se tiene los mismos componentes que el aceite esencial, en menores concentraciones [23].

Los aceites esenciales tienen varias funciones entre las cuales destacan su capacidad protectora frente a depredadores, al actuar como disuasorios, dando a las plantas un sabor amargo y transformándolas en materiales indigestos o venenosos, es por esto que se ha investigado la función de los productos naturales como bioplaguicida [24]. En el presente trabajo los componentes del aceite esencial tienen actividad plaguicida debido a que el 100% de las plagas (pulgones verdes) colocadas en la cámara húmeda murieron al final del experimento. Además, se descarta el daño de la hoja por el tiempo de observación y los componentes del aceite esencial a partir de los controles CA y CAE respectivamente. El efecto sobre los pulgones en las muestras tratadas con las diferentes concentraciones de aceite esencial se debe posiblemente a que el aceite esencial contiene varios metabolitos secundarios como el eugenol, que se comporta como neurotóxico en los insectos, ya que actúa a través del sistema octopaminérgico activando receptores para la octopamina [25]. Otros monoterpenos pueden actuar inhibiendo la acetilcolinesterasa lo cual provoca perturbaciones en la actividad celular y los procesos biológicos de los insectos lo que causa su muerte [26].

Otros estudios sugieren que los componentes de los extractos de frutas de *Illicum verum* como el eugenol y el trans anetol [27] pueden desarrollarse potencialmente al actuar como protectores de granos para controlar plagas como gorgojos e insectos de los productos almacenados como el maíz [19]. Existen varios investigaciones que comprueban la actividad plaguicida del anís estrellado contra diversas plagas como *Sitophilus zeamais, Cryptolestes pusillus Schnoherr* [28], *Lasioderma serricorne, Callosobruchus chinensis* [29] y *Aedes aegypti* [30]. En base a estos estudios se probó la efectividad el anís estrellado sobre *Aphis gossypii* (pulgón verde), obteniendo mejores resultados al utilizar concentraciones de aceite esencial al 0.2 % (Figura 1); ya que esta concentración afectó a los pulgones y permitió una disminución del daño sobre las hojas. En el presente trabajo se comprueba la

actividad plaguicida del aceite esencial como alternativa para el control de plagas en plantas adultas en un estudio *in vitro*, puesto que contiene una amplia variedad de metabolitos secundarios [31].

CONCLUSIÓN

Se extrajeron 4 mL de aceite esencial a partir de 427.51 g de muestra de anís estrellado mediante la técnica de extracción por arrastre de vapor, obteniendo un rendimiento de 0.936%. La efectividad del efecto alelopático se probó con el ensayo de germinación, en el cual, el tratamiento con hidrolato presentó un claro retardo del proceso de germinación. Se cuantificó la actividad plaguicida por medio de ensayos a diferentes concentraciones de aceite esencial (0, 0.2, 0.5, y 0.8 %) mediante su aplicación en hojas frescas de alverja. La concentración 0.2 % de aceite esencial fue buena para afectar a los pulgones y en consecuencia disminuir el daño sobre las hojas. Se evidenció que la concentración 0.2 % de aceite esencial a pesar de presentar mayor efecto alelopático e inhibitorio contra pulgón en hojas, genera diferencias poco significativas frente a los otros tratamientos.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por lo tanto, los autores reconocemos a la institución por su apoyo técnico.

REFERENCIAS

[1]. C. JA, G. EV, Otiniano PR y, C. CC, R. BH. Modelamiento y simulación del proceso de extracción de aceites esenciales mediante la destilación por arrastre con vapor. Rev Peru Química e Ing Química [Internet]. 2012 Dec 31 [cited 2021 Aug 4];15(2):19–27. Available from: https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4967

[2]. Suárez F. Agricultura, Biotecnología y Propiedad Intelectual [Internet]. San José; 1993 [cited 2021 Aug 5]. Available from: http://repiica.iica.int/docs/B1075e/B1075e.pdf

[3]. Casado I. Optimización de la extracción de Aceites Esenciales por destilación en Corriente de Vapor. Univ Politécnica Madrid. 2018;1:84.

[4]. Ocampo R. Química Orgánica. Enfocado a la Biología y Alimentos [Internet]. Universidad de Caldas; 2008 [cited 2021 Aug 5]. 182 p. Available from: https://books.google.com/books?id=qmFQ3LwymmMC&pgis=1

[5]. Naranjo J, Chávez A. Análisis comparativo entre dos métodos de extracción de aceites esenciales. Boletín Semillas Ambient [Internet]. 2015 [cited 2021 Aug 5];9(2):15–9. Available from: https://revistas.udistrital.edu.co/index.php/bsa/article/view/9735/10856

[6]. Cerpa MG, Mato RB, Cocero MJ. Hidrodestilación de aceites esenciales. Modelado y caracterización. AIChE J [Internet]. 2007 [cited 2021 Aug 5]; Available from: https://www.researchgate.net/profile/Manuel-Cerpa-2/publication/235356074_Hidrodestilacion_de_aceites_esenciales_Modelado_y_Caracterizacion/links/54f8f71d0cf28d6deca2dbdc/Hidrodestilacion-de-aceites-esenciales-Modelado-y-Caracterizacion.pdf

[7]. Mushtaq W, Siddiqui MB, Hakeem KR. Mechanism of Action of Allelochemicals. In Springer, Cham; 2020 [cited 2021 Aug 5]. p. 61–6. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-40807-7_7

[8]. Valencia del Toro G, Garín Aguilar ME. Manual de prácticas de Productos naturales. 2010 [cited 2021 Aug 5];56. Available from: https://studylib.es/doc/7634828/manual-de-prácticas-de-productos-naturales

[9]. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes - Manuel Francisco Ortuño Sánchez - Google Libros [Internet]. 2006 [cited 2021 Aug 5]. p. 99–100. Available from: https://books.google.com.ec/books?id=cW5TsDKqx9wC&pg=PA106&dq=valores+rf+en+silica+gel+que+son+y+como+calcular&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjYgL6f-JryAhVJA6wKHbO0B64Q6AEwAXoECAIQAg#v=onepage&q=valores rf en silica gel que son y como calcular&f=false

[10]. Thorburn Burns D. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. Anal Chim Acta [Internet]. 1986 [cited 2021 Aug 4];181:294–5. Available from: https://books.google.com.ec/books?id=8y2B_61iOhIC&printsec=copyright#v=onepage&q&f=false

[11]. Laynez Garsaball JA, Méndez Natera JR. Allelopathic effects of aqueous extracts of leaves of tree marigold (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) on seed germination and seedling growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.). Sci Agropecu. 2013;4:229–41.

[12]. Hernández B. Investigación de potenciales propiedades alelopáticas de dos especies de leguminosas (*Calliandra carbonaria*) y (*Vicia faba* L.) sobre malezas del cultivo de quinua. 2015;88. Available from: http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6440/1/T-UCE-0004-28.pdf

[13]. González Castillo LE. Efectos del aceite esencial y extractos acuosos de *Eucalyptus gomphocephala* DC. sobre la germinación y el crecimiento de arvenses. PROYECTO FINAL DE MÁSTER. 2011.

[14]. Quintanilla R. Pulgones: características morfológicas y biológicas: especies de mayor importancia agrícola [Internet]. 1976 [cited 2021 Sep 13]. p. 4–9. Available from: https://books.google.com.ec/books?id=XEJjAAAAMAAJ&q=pulgones+morfología&dq=pulgones+morfología&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y

[15]. Alejandra P, Almeida B. Determinación de la actividad insecticida, repelente y antialimentaria del aceite esencial del molle (*Schinus molle*) en trips (*Frankliniella occidentalis*). 2019.

[16]. Arias J, Gonzalo SA, Figueroa I, Fischer S, Robles-Bermúdez A, Concepción Rodríguez-Maciel J, et al. Actividad insecticida, repelente y antialimentaria del polvo y aceite esencial de frutos de *Schinus molle* L. para control de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). Chil J Agric Anim Sci, ex Agro-Ciencia. 2016;33(2):93–104.

[17]. Quert Álvarez R, Miranda Martínez M, Leyva Córdova B, García Corrales H, Gelabert Ayón F. Rendimiento de aceite esencial en *Pinus caribaea* MorElet según el secado al sol y a la sombra, III. Rev Cuba Farm [Internet]. 2001 [cited 2021 Aug 5];35(1):47–50. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152001000100008

[18]. Kamel Msaada, Hosni K, Taarit M Ben, Hammami M, Marzouk B. Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L). Med Aromat Plant Sci Biotechnol. 2007; 102(4):1131-1134.

[19]. L W, R H, M L, Y H, S L, Y H, *et al*. Chemical composition and biological activity of star anise Illicium verum extracts against maize weevil, *Sitophilus zeamais* adults. J Insect Sci [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2021 Aug 7];14(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25368036/

[20]. Aniya, Nomura Y, Fuerdeng, Appiah KS, Fujii Y. Evaluation of allelopathic activity of Chinese medicinal plants and identification of shikimic acid as an allelochemical from *Illicium verum* hook. f. Plants. 2020;9(6).

[21]. Murillo P. E, Delos Reyes. L. Potencial aleopático de los lixiviados acuosos y los extractos orgánicos de *Artemisia Absinthium* (ASTERACEAE). Vitae (Medellín). 2003;51–8.

[22]. Sikkema J, Bont JA de, Poolman B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiol Rev. 1995;59(2):201.

[23]. Torres L, Rigueiro A. La evaluación del desarrollo inicial de plántulas contribuye a la determinación de la potencialidad bioherbicida de aceites e hidrolatos de especies aromáticas. Congr la Soc Española Malherbología. 2017;(Tabla 1):443–7.

[24]. García AÁ, Carril EP-U. Metabolismo

secundario de plantas. REDUCA (Biología) [Internet]. 2011 Oct 5 [cited 2021 Aug 7];2(3):119–45. Available from: http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798

[25]. Enan EE. Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. Insect Biochem Mol Biol. 2005 Apr 1;35(4):309–21.

[26]. Mills C, Cleary B V, Walsh JJ, Gilmer JF. Inhibition of acetylcholinesterase by Tea Tree oil. J Pharm Pharmacol [Internet]. 2010 Feb 18 [cited 2021 Sep 15];56(3):375–9. Available from: https://academic.oup.com/jpp/article/56/3/375/6147168

[27]. Plaus E, Flores G, Ataucusi S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Médica Hered [Internet]. 2001 [cited 2021 Aug 7];12(3):16–9. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2001000100004

[28]. Li SG, Li MY, Huang YZ, Hua RM, Lin HF, He YJ, *et al*. Fumigant activity of *Illicium verum* fruit extracts and their effects on the acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activities in adult *Sitophilus zeamais*. J Pest Sci (2004). 2013 Dec;86(4):677–83.

[29]. Kim S Il, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. J Stored Prod Res. 2003 Jan 1;39(3):293–303.

[30]. D C, W C, E R, U C, P C, A J, *et al*. Essential oils as potential adulticides against two populations of *Aedes aegypti*, the laboratory and natural field strains, in Chiang Mai province, northern Thailand. Parasitol Res [Internet]. 2006 Nov [cited 2021 Aug 7];99(6):715–21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16738885/

[31]. Celis Á, Mendoza C, Pachón M, Cardona J, Delgado W, Cuca E. Plant extracts used as biocontrol with emphasis on Piperaceae family. A review. Agron Colomb [Internet]. 2008 [cited 2021 Aug 3];26(1):97–106. Available from: http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n1/v26n1a12.pdf