

GRASAS Y ACEITES, 63 (2),
 ABRIL-JUNIO, 214-222, 2012,
 ISSN: 0017-3495
 DOI: 10.3989/gya.129611

Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España)

Por O. Santana^{a,b}, R. Cabrera^c, C. Giménez^c, A. González-Coloma^d, R. Sánchez-Vioque^{a,b},
 M. de los Mozos-Pascual^a, M. F. Rodríguez-Conde^a, I. Laserna-Ruiz^a,
 J. Usano-Aleman^a y D. Herraiz^{a,*}

^aCentro de Investigación Agraria de Albaladejito. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
 Carretera Toledo-Cuenca km 174, 16194 Cuenca. España. Tel.: 969 213763

^bInstituto de Recursos Humanos para la Ciencia y la Tecnología (INCRECYT).

Fundación Parque Científico y Tecnológico de Albacete. Paseo de la Innovación 1,
 02006 Albacete. España. Tel.: 967 555303

^cUnidad de Fitopatología. Facultad de Biología. Universidad de La Laguna (ULL).

Avda. Astrofísico Francisco Sánchez s/n, 38204 La Laguna. Tenerife. España. Tel.: 922 318348

^dInstituto de Ciencias Agrarias (ICA-CSIC). Serrano 115 dpdo., 28006 Madrid. España. Tel.: 91 7452500

*Autor para la correspondencia: dherraiz@jccm.es

RESUMEN

Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España)

En este trabajo se presenta el estudio químico y biológico de los aceites esenciales de *Salvia officinalis* L., *Salvia lavandulifolia* Vahl., *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel., *Lavandula latifolia* Medik., *Lavandula angustifolia* Mill. y *Thymus vulgaris* L. El estudio químico por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de los aceites esenciales permitió la identificación de 61 compuestos, de los cuales 23 presentaron un porcentaje mayor o igual al 1 %. Los aceites esenciales de *Salvia* sp. se caracterizaron por presentar un alto contenido de 1,8 cineol (16-23%) y, en el caso específico de *S. officinalis*, una elevada proporción de α -tuyona (15.7%). En *Lavandula* sp., los compuestos mayoritarios del aceite fueron linalol (30-33%), alcanfor (5-17%) y acetato de linalilo (9-28%); mientras que en *T. vulgaris* lo fueron carvacrol (21.6%) y p-cimeno (23.7%). La caracterización biológica, desde el punto de vista de la actividad bioplaguicida, mostró que los aceites ensayados disminuyeron significativamente la alimentación de *Leptinotarsa decemlineata* Say, *Spodoptera littoralis* Boisid., *Myzus persicae* Sulzer y *Rhopalosiphum padi* L., mostraron actividad fitotóxica frente a *Lactuca sativa* L. y *Lolium perenne* L. y disminuyeron el crecimiento del micelio del hongo de *Fusarium* sp. Los aceites de *T. vulgaris* y *L. latifolia* fueron los más activos frente a todas las especies empleadas como dianas biológicas. Los resultados obtenidos potencian el valor añadido de los aceites de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha como una alternativa interesante en programas de desarrollo de agroquímicos naturales.

PALABRAS-CLAVE: Aceites esenciales – Actividad bioplaguicida – Agroquímicos naturales – *Lavandula* – *Salvia* – *Thymus*

SUMMARY

Chemical and biological profiles of the essential oils from aromatic plants of agro industrial interest in Castilla-La Mancha (Spain)

The chemical composition and biological activities of essential oils of *Salvia officinalis* L., *Salvia lavandulifolia*

Vahl., *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel., *Lavandula latifolia* Medik., *Lavandula angustifolia* Mill. and *Thymus vulgaris* L. are presented. The essential oils have been analysed by Gas Chromatography Mass Spectrometry and 61 compounds were identified, 23 of which represented more than 1% of the essential oil. The 1,8 cineole (16-23%) appeared as the main compound of *Salvia* sp. essential oils. The high content of α -thujone was characteristic in *S. officinalis* oil. Remarkable concentrations of linalool (30-33%), camphor (5-17%) and linalyl acetate (9-28%) were detected in *Lavandula* sp. oils while carvacrol (21.6%) and p-cimene (23.7%) were the most abundant compounds in *T. vulgaris* oil. Biological characterization was based on their bioplague activity. The essential oils studied had strong antifeedant effects against *Leptinotarsa decemlineata* Say, *Spodoptera littoralis* Boisid., *Myzus persicae* Sulzer and *Rhopalosiphum padi* L., phytotoxic activity against *Lactuca sativa* L. and *Lolium perenne* L. and also exhibited high antifungal activity against *Fusarium* sp. Oils from *T. vulgaris* and *L. latifolia* showed the highest levels of bioactivity against all target species. These results provide an added-value to the essential oils of aromatic plants of agro-industrial interest for its potential use in the development of natural agrochemicals.

KEY-WORDS: Bioplague activity – Essential oils – *Lavandula* – Natural agrochemicals – *Salvia* – *Thymus*

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de plantas aromáticas representa una importante actividad agraria en algunas zonas de España y, particularmente, en las comarcas castellano-manchegas de la Alcarria (Cuenca y Guadalajara), Serranía Alta (Cuenca) y Señorío de Molina-Alto Tajo (Guadalajara) donde se concentra el 50% de la producción nacional de lavandas (MARM, 2010).

El principal producto comercial obtenido de estas especies vegetales es su aceite esencial (AE). Más del 90% de la producción de AE se utiliza como materia prima en la industria de la cosmética (perfumes y productos para la piel y el cabello), in-

industria alimentaria (aromatizantes), industria farmacéutica (antimicrobianos) y en herboristería (aromaterapia) (Lubbe y Verpoorte, 2011; Isman *et al.*, 2011). Alrededor de 3000 especies de plantas pertenecientes a 10 familias botánicas se utilizan para la obtención de aceites esenciales (Thripathi *et al.*, 2009). Sin embargo, sólo 300 de éstos aceites se comercializan en el mercado mundial, clasificándose en 3 grupos de acuerdo a su volumen de producción (CBI, 2009). Entre los 20 que más demanda tienen se encuentran el AE de lavandín (*Lavandula x intermedia*) ubicado dentro del grupo 1 (producción de más de 100 ton./año) y los AEs de espliego (*Lavandula latifolia* Medik.), salvia común (*Salvia officinalis* L.), salvia española (*Salvia lavandulifolia* Vahl) y tomillo (*Thymus vulgaris* L.) clasificados dentro del grupo 2 (producción entre 50-100 ton./año) (Lubbe y Verpoorte, 2011).

Estos AEs son mezclas muy complejas, alrededor de 50 compuestos, de monoterpenos, sesquiterpenos, aldehídos, cetonas y fenoles (Isman *et al.*, 2010). Los monoterpenos son las moléculas más abundantes, llegando a representar hasta el 90% del aceite (Thripathi *et al.*, 2009). Entre los mayoritarios destacan los monoterpenos oxigenados (ej. 1,8-cineol, linalol, alcanfor, carvacrol), monoterpenos hidrocarbonados (ej. α -pineno, β -pineno, limoneno, p-cimeno) y ésteres monoterpénicos (ej. acetato de linalilo) (Guillen *et al.*, 1996; Pierozan *et al.*, 2009).

Esta composición puede variar considerablemente a nivel intraespecífico dependiendo del genotipo, de las condiciones de extracción y de factores ambientales como las condiciones climáticas, localización geográfica y fecha de recolección (Muñoz-Bertomeu *et al.*, 2007; Boszormenyi *et al.*, 2009; Herraiz *et al.*, 2010; González-Coloma *et al.*, 2011; Lamien *et al.*, 2010). De ahí que algunas de las principales fuentes de AEs se reconozcan como variedades, ecotipos y/o quimiotipos diferentes (Raal *et al.*, 2007; Lamien *et al.*, 2010).

A esta variabilidad en la composición química de los AEs se encuentra asociada una gran multifuncionalidad como consecuencia de la capacidad de éstos de interaccionar con receptores específicos de múltiples dianas biológicas. En este sentido, muchos de los AEs destacan por ser eficientes insecticidas frente a una amplia gama de insectos (Hummelbrunner e Isman, 2001; Pavela, 2005; Thripathi *et al.*, 2009; Jian *et al.*, 2010; Isman *et al.*, 2011) además de poseer actividad antimicrobiana (Auria *et al.*, 2005; Bozin *et al.*, 2007; Pierozan *et al.*, 2009) y fitotóxica (Argyropoulous *et al.*, 2008).

El presente trabajo tiene como objetivo la caracterización química y biológica de los aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha tales como lavandín (*Lavandula x intermedia*), espliego (*Lavandula latifolia* Medik.), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), salvia común (*Salvia officinalis* L.), salvia española (*Salvia lavandulifolia* Vahl) y tomillo (*Thymus vulgaris* L.). Los perfiles químicos se determinaron mediante el análisis de los AE por cromatografía de

gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). La caracterización biológica se realizó basándose en su actividad antialimentaria contra insectos plaga de importancia económica (*Spodoptera littoralis* Boisid., *Leptinotarsa decemlineata* Say, *Myzus persicae* Sulzer y *Rhopalosiphum padi* L.), su actividad fitotóxica sobre plantas modelo (*Lactuca sativa* L. y *Lolium perenne* L.) y su actividad antimicrobiana sobre hongos fitopatógenos (*Fusarium moniliforme* Sheldon, *F. oxysporum* Schlecht y *F. solani* Mart.).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los disolventes químicos, los patrones empleados para los análisis de GC-MS (monoterpenos) y la Juglona (97%) se adquirieron a través de Sigma-Aldrich®.

2.1. Material vegetal

Las plantas aromáticas objeto de este estudio se recolectaron en las parcelas experimentales del Centro de Investigación Agraria de Albaladejito (Cuenca, España) en el período de plena floración. De cada especie se tomó la parte aérea (inflorescencias, hojas y tallos) sometiendo a un proceso de secado a temperatura ambiente durante 5 días hasta la extracción del AE.

2.2. Extracción de los aceites esenciales

Las muestras secas (aproximadamente 100 g) se sometieron a un proceso de hidrodestilación con cohobación en un aparato tipo Clevenger durante 4 h, según lo descrito por Boland *et al.* (1991).

2.3. Análisis de los aceites esenciales

La composición química de los AEs se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Se empleó un cromatógrafo de gases marca Agilent Technologies modelo 5890 Series II plus equipado con una columna apolar de fenilmetilsiloxano (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m) al 5% de Agilent Technologies (Palo Alto, CA, U.S.A.) como fase estacionaria, y un detector de espectrometría de masas inerte modelo Agilent 5972. Las condiciones experimentales se detallan en Herraiz *et al.* (2010).

Los picos individuales se identificaron de acuerdo a sus tiempos e índices de retención (relativos a los alcanos C₆-C₁₇), comparados con los de los patrones de referencia (Across Organics BVBA/SPRL, Fisher Scientific S.A. y Sigma Aldrich Química S.A.). Además, los espectros de masas obtenidos se contrastaron con los de la biblioteca NIST98 (NIST, Gaithersburg, MD) y se compararon con los espectros obtenidos de los patrones y/o con aquellos previamente publicados (Adams 1995; 2001). Los porcentajes de cada compuesto en los aceites

esenciales se calcularon en función del área de los picos del cromatograma.

2.4. Mantenimiento de los hongos fitopatógenos

Las colonias de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. moniliforme* se obtuvieron de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) (códigos 2715, 2199 y 2152 respectivamente) y se mantuvieron en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de La Laguna (España). El mantenimiento de las colonias se realizó mediante el procedimiento estándar de siembra en PDA (Patata Dextrosa Agar) y conservación en oscuridad a 3-5 °C.

2.5. Cria y mantenimiento de los insectos

La cría y mantenimiento de los insectos se llevó a cabo en una cámara de temperatura controlada a 24 ± 1 °C, 60-70% de humedad relativa y un fotoperíodo de 16:8 horas (luz:oscuridad). Estas mismas condiciones son las que se usaron para el desarrollo de los bioensayos descritos más abajo. Las larvas de *S. littoralis* se alimentaron con una dieta semisintética (Poitut y Bues, 1970) mientras que *L. decemlineata*, *M. persicae* y *R. padi* se mantuvieron alimentándose sobre sus plantas huésped (*Solanum tuberosum* L., *Capsicum annuum* L. y *Hordeum vulgare* L., respectivamente) según lo descrito por Reina *et al.* (2001).

2.6. Bioensayos

Actividad antialimentaria

Este ensayo se basó en la preferencia de larvas del sexto estadio (L6) de *S. littoralis* y adultos de *L. decemlineata* por discos de hojas (tratados y control) de planta huésped (*C. annuum* y *S. tuberosum*, respectivamente) colocados en la misma placa. Las áreas foliares no consumidas se midieron con la aplicación Image J. 1.43, 2010 (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). El porcentaje de inhibición de la alimentación (% FI) se calculó según lo descrito en Burgueño-Tapia *et al.* (2008).

En el caso de los áfidos se determinó el efecto de los diferentes AEs sobre el asentamiento de adultos no alados de *M. persicae* y *R. padi* sobre discos de hojas (tratados y control) de planta huésped (*C. annuum* y *H. vulgare*, respectivamente) colocados en la misma placa. El porcentaje de inhibición del asentamiento (% SI) se calculó según Burgueño-Tapia *et al.* (2008).

Actividad fitotóxica

Las semillas diana empleadas para este tipo de ensayo fueron *Lactuca sativa* L. var. Carrascoy (dicotiledónea) y *Lolium perenne* L. (monocotiledónea) según la metodología detallada en Moiteiro *et al.* (2006). El porcentaje de germinación se registró diariamente

durante 7 días. Al final del experimento se midió la elongación radicular (*Lactuca* y *Lolium*) y del tallo (*Lolium*), de 25 plantas seleccionadas al azar, con la aplicación Image J. 1.43. Se emplearon como control negativo el disolvente en que se diluyó el aceite (acetona) y como control positivo la juglona. Los datos se expresaron como porcentajes del control.

Actividad antifúngica

Para determinar la actividad antifúngica se empleó el método de dilución en agar (Murabayashi *et al.*, 1991) con ligeras modificaciones (Giménez-Mariño, 2006). Se emplearon 5 concentraciones diferentes: 1, 0.5, 0.05 y 0.01 mg de extracto por cada ml de medio. Se realizaron ocho siembras por picadura distribuidas uniformemente y se incubaron en oscuridad a una temperatura de 27 °C durante 48 horas. Al final del experimento se midió el diámetro de las colonias con la ayuda de la aplicación Image J. 1.43. (Giménez-Mariño, 2006).

2.7. Análisis estadísticos

Los porcentajes de inhibición de la alimentación (%FI) y del asentamiento (%SI) se analizaron mediante la prueba no paramétrica de rangos con signos de Wilcoxon. Los porcentajes de germinación y de inhibición del micelio del hongo (%I) se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA, $p < 0.05$). Los valores porcentuales se transformaron previamente mediante la fórmula $\arcsin\sqrt{(x/100)}$. Los datos de la longitud de la raíz y la hoja se analizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney ($p < 0.05$). La dosis a la que se produce el 50% de inhibición (EC_{50}) se calculó mediante un análisis de regresión simple. Para los análisis estadísticos se empleó el paquete estadístico IBM® PASW® ver. 18.0.0 (<http://www.spss.com/>).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Composición química de los aceites esenciales

En el análisis por GC-MS de los aceites esenciales de *S. officinalis*, *S. lavandulifolia*, *L. latifolia*, *L. angustifolia*, *Lavandula x intermedia* y *T. vulgaris* se identificaron un total de 61 componentes, de los cuales 23 presentaron una concentración relativa superior al 1% en al menos una de las especies estudiadas. Estos últimos constituyentes (>1%) representaron entre el 80-85% de la composición total del aceite (Tabla 1). Los compuestos monoterpénicos (oxigenados e hidrocarbonados) constituyeron la fracción mayoritaria (alrededor del 70% del aceite) de acuerdo a lo descrito por Tripathi *et al.* (2009).

Aceite esencial de *Salvia* sp.

Los aceites de *Salvia* sp. se caracterizaron por la presencia del 1,8 cineol como principal constitu-

Tabla 1
Concentración (%) de los principales componentes (> 1%)
de los aceites esenciales de las especies estudiadas

Clase química	Aceites esenciales					
	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Salvia lavandulifolia</i>	<i>Lavandula latifolia</i>	<i>Lavandula angustifolia</i>	<i>L. x intermedia</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
MH	22.63	29.0	7.81	13.15	1.32	37.42
α -pineno	8.18	9.54	1.97	1.01	nd	2.32
Canfeno	1.77	2.46	1.00	nd	nd	nd
β -pineno+mirceno	6.81	10.01	2.20	1.19	1.32	3.22
p-cimeno	2.39	1.4	nd	nd	nd	23.73
Limoneno	2.42	4.01	2.64	4.13	nd	1.41
γ -terpineno	1.06	1.58	nd	nd	nd	6.74
β -E-ocimeno	nd	nd	nd	6.82	nd	nd
MO	50.22	45.83	66.04	47.38	50.28	37.36
1,8-cineol	16.60	22.54	11.02	5.82	6.44	4.26
Linalol	7.71	10.96	33.51	32.36	30.72	7.93
α -tuyona	15.76	1.08	nd	nd	nd	nd
β -tuyona	2.77	nd	nd	nd	nd	nd
Alcanfor	6.36	9.04	17.34	5.51	10.18	0.95
Borneol	1.02	2.21	4.17	2.33	2.94	1.25
Carvacrol	nd	nd	nd	nd	nd	21.59
Terpinen-4-ol	nd	nd	nd	1.36	nd	1.38
EM	3.49	3.25	9.30	17.31	28.26	3.06
Acetato de linalilo	3.49	2.13	9.30	17.31	28.26	3.06
Acetato de bornilo	nd	1.11	nd	nd	nd	nd
SE	7.79	7.36	5.29	8.42	2.95	3.28
Trans-cariofileno	3.84	5.75	2.31	6.06	1.9	3.28
β -himachaleno	1.2	nd	1.34	1.24	1.05	nd
Oxido de cariofileno	1.06	nd	nd	nd	nd	nd
β -bisaboleno	nd	nd	1.64	nd	nd	nd
Viridiflorol	1.69	1.61	nd	nd	nd	nd
Aromadendreno	nd	nd	nd	1.12	nd	nd

MH: Monoterpenos hidrocarbonados

MO: Monoterpenos oxigenados

EM: Ésteres monoterpénicos

SE: Sesquiterpenos

nd: No detectado

yente (Tabla 1). Otros componentes mayoritarios fueron los monoterpenos oxigenados α -tuyona, linalol y alcanfor; los monoterpenos hidrocarbonados α -pineno, β -pineno y limoneno y, en menor proporción, el éster monoterpénico acetato de linalilo y el sesquiterpeno trans-cariofileno. La abundancia de estos compuestos resultó variable en ambas especies de salvia (*S. officinalis* y *S. lavandulifolia*). Las principales diferencias se observaron en la presencia o no de tuyonas. Destaca el contenido de α -tuyona que fue significativamente superior en

S. officinalis (15.8% vs. 1.1%), constituyendo la principal diferencia entre los aceites de estas dos especies en concordancia con lo descrito por Guillén *et al.* (1996) y Giannouli y Kintzios (2000).

Un gran número de trabajos citan estos compuestos como mayoritarios en la composición de los aceites esenciales de salvia (Guillén *et al.*, 1996; Giannouli y Kintzios, 2000; Raal *et al.*, 2007; Bozin *et al.*, 2007; Pierozan *et al.*, 2009; Boszormenyi *et al.*, 2009; Herraiz *et al.*, 2010; Lamien *et al.*, 2010; Miguel *et al.*, 2011). Sin embargo, la

proporción en que se encuentran varía considerablemente a nivel inter e intraespecífico, lo que determina la existencia de una gran cantidad de quimiotipos. En el caso de los aceites de *S. officinalis*, Boszormenyi et al. (2009) describen 5 grupos químicos teniendo en cuenta la abundancia relativa de sus principales constituyentes (1,8 cineol, α -tuyona, β -tuyona y alcanfor). Además, en esta especie se han descrito quimiotipos específicos como viridiflorol, α -tuyona y β -tuyona (Lamien et al., 2010). Algo similar ocurre con *S. lavandulifolia*, donde Herrera et al. (2010) establecen diferentes subgrupos poblacionales para esta especie en Castilla-La Mancha (España) basados en la proporción en que se encuentran los monoterpenos 1,8 cineol, limoneno, alcanfor y borneol.

Aceite esencial de Lavandula sp.

La composición química de los AEs de *L. latifolia*, *L. angustifolia* y el híbrido *L. x intermedia* coincidió con la publicada para estas especies (Tabla 1). Los altos contenidos observados de monoterpenos como linalol (30-33%) y alcanfor (5-17%) y el éster acetato de linalilo (9-28%) coinciden con los previamente citados por Guillén et al. (1996), Lis-Balchin (2002) y Boeckelmann (2008) para este género. La presencia o no así como la abundancia de estos compuestos varió dependiendo de la especie. Las principales diferencias se encontraron en los bajos contenidos de acetato de linalilo (9.3%) y alcanfor (5.5%) encontrados en *L. latifolia* y *L. angustifolia*, respectivamente, así como el alto contenido de acetato de linalol (28.3%) detectado en el aceite de *L. x intermedia*. Cavanagh y Wilkinson (2002) plantean que el bajo contenido de alcanfor encontrado en el aceite de *L. angustifolia* está relacionado con un alto contenido en sesquiterpenos del tipo cariofileno. Nuestros resultados apoyan esta hipótesis teniendo en cuenta que, al comparar las tres especies estudiadas, el bajo contenido del alcanfor del aceite de *L. angustifolia* (5.5%) coincidió con el contenido más elevado de trans-cariofileno (6.1%) (Tabla 1). Otros estudios describen varios quimiotipos basados en la proporción de los principales constituyentes del aceite de *Lavandula sp.* (Palá et al., 2004).

Aceite esencial de T. vulgaris

Los monoterpenos p-cimeno y carvacrol representaron más del 45% de la composición del aceite esencial de *T. vulgaris* (Tabla 1). Otros compuestos mayoritarios fueron linalol seguido de γ -terpineno y 1,8 cineol, los cuales representaron el 18.9% del aceite (Tabla 1). Cases et al. (2009) describen la presencia de estos compuestos en 63 poblaciones de *T. vulgaris* de Castilla-La Mancha (España). Sin embargo, a diferencia de nuestros resultados, el compuesto mayoritario de los aceites analizados por dichos autores fue el 1,8 cineol (30-40%) y las concentraciones de p-cimeno (7%) y carvacrol (0.5-1.5%) fueron significativamente más bajas.

En la literatura se citan hasta 7 quimiotipos de esta especie, dependiendo en cada caso del componente más abundante: timol, carvacrol, geraniol, linalol, α -terpineol, γ -terpineol (Torras et al., 2007; Rota et al., 2008) y el quimiotipo 1,8 cineol, endémico de la Península Ibérica (Guillén y Manzanos, 1998).

Granger y Passet (1973) describen el quimiotipo carvacrol de *T. vulgaris* procedente de Francia caracterizado por una concentración elevada de carvacrol (30-70%) y donde p-cimeno y γ -terpineno representaban casi la totalidad de los monoterpenos hidrocarbonados. En nuestros resultados encontramos una alta concentración de carvacrol (21.6%) y de la combinación de p-cimeno + γ -terpineno (30.5%), constituyendo éstos últimos el 80% de la fracción de monoterpenos hidrocarbonados. Dichos monoterpenos se consideran precursores biogénicos del carvacrol y el timol, de ahí que una alta concentración de p-cimeno + γ -terpineno se asocie a los quimiotipos carvacrol y timol (Thompson et al., 2003). Estos resultados sugieren que el aceite de *T. vulgaris* analizado en este trabajo probablemente se trate del quimiotipo carvacrol. Esta hipótesis se ve reforzada si tenemos en cuenta que la muestra de *T. vulgaris* empleada en este estudio no procedía de poblaciones autóctonas de España sino de la Provenza (Francia).

3.2. Actividad antialimentaria

En la Tabla 2 se muestra la actividad de los AEs estudiados frente a las diferentes especies de insectos. En general, todas las muestras ensayadas mostraron actividad antialimentaria frente a la mayoría de las dianas ensayadas. Los aceites más activos correspondieron a *L. latifolia* y *T. vulgaris*, inhibiendo significativamente la alimentación de *L. decemlineata* y *S. littoralis* (FI > 85%) así como el asentamiento de las dos especies de áfidos (SI > 84%).

El mecanismo de acción de los aceites esenciales como insecticidas no está claro. Sin embargo, se han observado actividades antialimentarias, repelentes y tóxicas lo que demuestra que este tipo de sustancias pueden afectar la fisiología de los insectos de diferentes maneras (Kumar et al., 2011). Por ejemplo, Pavela (2005) describe niveles muy elevados de mortalidad (95-100%) y toxicidad fumigante (85-100%) de aceites de *L. latifolia*, *L. angustifolia*, *S. officinalis* y *T. vulgaris* sobre larvas de *S. littoralis*. En otro estudio llevado a cabo por Park et al. (2005), el AE de *T. vulgaris* mostró una fuerte actividad repelente frente a mosquitos, atribuida a la presencia de una gran concentración de carvacrol; coincidiendo con nuestros resultados en lo relativo a la actividad frente a áfidos.

Muchos autores asocian la actividad insecticida de estos aceites a sus principales componentes: 1,8 cineol, alcanfor, linalilo, limoneno, carvacrol, p-cimeno, α -pineno (Kordali et al., 2007; Abdelgaleil, 2010; Kumar et al., 2011). Sin embargo, dada la

Tabla 2
Actividad antialimentaria de los AEs ensayados (100µg/cm²) sobre *L. decemlineata*, *S. littoralis*, *M. persicae* y *R. padi* en ensayos de elección (datos expresados como la media ± SE).

Aceite esencial	%FI ^a		%SI ^b	
	<i>L. decemlineata</i>	<i>S. littoralis</i>	<i>M. persicae</i>	<i>R. padi</i>
<i>Salvia officinalis</i>	76.01 ± 8.18 ^c	93.55 ± 3.28 ^c	87.76 ± 5.72 ^c	66.21 ± 8.23 ^c
<i>Salvia lavandulifolia</i>	67.86 ± 10.83 ^c	70.53 ± 15.46 ^c	30.33 ± 10.56	86.00 ± 9.44 ^c
<i>Lavandula latifolia</i>	86.48 ± 6.56 ^c	87.95 ± 3.84 ^c	96.19 ± 2.25 ^c	84.71 ± 7.97 ^c
<i>Lavandula angustifolia</i>	91.95 ± 6.17 ^c	74.79 ± 9.98 ^c	86.99 ± 5.85 ^c	42.53 ± 9.31
<i>Lavandula x intermedia</i>	87.22 ± 5.56 ^c	80.56 ± 9.88 ^c	90.48 ± 5.56 ^c	48.93 ± 9.34
<i>Thymus vulgaris</i>	88.88 ± 4.45 ^c	93.45 ± 2.37 ^c	90.52 ± 5.20 ^c	94.33 ± 2.92 ^c

^a % FI = [1 - (T/C)] x 100, donde T y C representan el área consumida en los discos tratados y control respectivamente.

^b % SI = 1 - (%T/%C) x 100, donde T y C representan el porcentaje de pulgones sobre la superficie tratada y control respectivamente.

^c Diferencias significativas respecto al control. Prueba no paramétrica de rangos con signos de Wilcoxon, p < 0.05.

complejidad química de los AEs, en muchos casos la actividad insecticida se ve reforzada por la interacción entre compuestos que actúan sinérgicamente (Isman *et al.*, 2011) y en otros casos de forma aditiva y/o antagonista (Pavela, 2010). Por ello, resulta muy complicado establecer relaciones estructura-actividad al no poder correlacionar la actividad encontrada con los componentes mayoritarios del aceite. Este comportamiento ha sido descrito en la actividad antialimentaria de aceites esenciales de *Lavandula luisieri* Rozeira (González-Coloma *et al.*, 2011) y *T. vulgaris* (Jiang *et al.*, 2010) así como en el estudio de la actividad tóxica y antialimentaria de 12 monoterpenos presentes en la composición de la mayoría de los aceites esenciales (Hummelbrunner e Isman, 2001). En este sentido, se ha corroborado que la combinación de p-cimeno + carvacrol es capaz de aumentar 8 veces la actividad tóxica fumigante frente a *S. littoralis* cuando se compara la actividad de la

mezcla con la de los componentes individuales (Pavela, 2010). Esto podría explicar la fuerte actividad antialimentaria del AE de *T. vulgaris* expuesta en este trabajo.

3.3. Actividad fitotóxica

La actividad fitotóxica de los AEs estudiados frente a *L. sativa* y *L. perenne* se muestra en las Tablas 3 y 4. Las sustancias ensayadas mostraron una actividad variable dependiendo del tipo de aceite y de la especie de planta aunque, en general, *L. sativa* fue más sensible a la aplicación de los AEs. En ambas especies el porcentaje de germinación se vio más afectado que la longitud de la raíz y la hoja. Los aceites de *Lavandula* sp. fueron los más activos frente a *L. sativa* mientras que el aceite de *T. vulgaris* fue el más fitotóxico frente a *L. perenne*.

Tabla 3
Actividad fitotóxica de los AEs ensayados (100µg/cm²) sobre la germinación y longitud de la raíz de *L. sativa* (datos expresados como la media ± SE)

Aceite esencial	Germinación (%C)			Longitud de la raíz (%C)
	24h	48h	72h	
<i>Salvia officinalis</i>	2.8 ± 2.2 ^a	26.3 ± 11.3 ^a	35.9 ± 9.3 ^a	91.9 ± 0.1
<i>Salvia lavandulifolia</i>	8.3 ± 4.3 ^a	26.3 ± 2.6 ^a	82.0 ± 5.2	72.3 ± 0.08 ^b
<i>Lavandula latifolia</i>	2.7 ± 2.1 ^a	5.3 ± 4.5 ^a	23.1 ± 6.7 ^a	62.5 ± 0.09 ^b
<i>Lavandula angustifolia</i>	2.8 ± 2.2 ^a	10.5 ± 3.6 ^a	35.9 ± 4.5 ^a	89.4 ± 0.1
<i>Lavandula x intermedia</i>	0.0 ± 0.0 ^a	7.9 ± 2.2 ^a	35.9 ± 2.6 ^a	74.8 ± 0.2 ^b
<i>Thymus vulgaris</i>	2.8 ± 2.2 ^a	18.4 ± 7.6 ^a	43.6 ± 4.3 ^a	93.2 ± 0.2
Juglona	0.1 ± 0.01 ^a	0.1 ± 0.01 ^a	0.1 ± 0.01 ^a	0.0 ± 0.0 ^b

%C: Porcentaje respecto al control negativo (acetona), n = 25.

h: horas.

^a ANOVA, p < 0.05.

^b Prueba U de Mann-Whitney, p < 0.05.

Tabla 4
Actividad fitotóxica de los AEs ensayados (100µg/cm²) sobre la germinación, longitud de la raíz y longitud de la hoja de *L. perenne* (datos expresados como la media ± SE)

Aceite esencial	Germinación (%C)		Longitud de la raíz (%C)	Longitud de la hoja (%C)
	72h	96h		
<i>Salvia officinalis</i>	80 ± 5.2	103 ± 5.8	91.3 ± 0.1	85.9 ± 0.1
<i>Salvia lavandulifolia</i>	20.0 ± 0.2 ^a	55.2 ± 6.3 ^a	87.3 ± 0.3	79.0 ± 0.2 ^b
<i>Lavandula latifolia</i>	65 ± 5.6 ^a	86.2 ± 9.2	69.7 ± 0.1 ^b	67.3 ± 0.1 ^b
<i>Lavandula angustifolia</i>	30.0 ± 2.6 ^c	79.3 ± 6.7	77.2 ± 0.2 ^b	77.3 ± 0.1 ^b
<i>Lavandula x intermedia</i>	50 ± 5.8 ^a	72.4 ± 9.9	77.5 ± 0.2 ^b	72.8 ± 0.2 ^b
<i>Thymus vulgaris</i>	20.0 ± 3.6 ^a	41.4 ± 7.3 ^a	77.2 ± 0.2 ^b	74.9 ± 0.2 ^b
Juglona	0.0 ^a	3.5 ± 2.2 ^a	5.8 ± 0.1 ^b	0.3 ± 0.0 ^b

%C: Porcentaje respecto al control negativo (acetona), n = 25.

h: horas.

^a ANOVA, p < 0.05.

^b Prueba U de Mann-Whitney, p < 0.05.

Nuestros resultados coinciden con los previamente publicados sobre la actividad alelopática de los aceites de *Salvia* sp., *Lavandula* sp. y *Thymus* sp. y sus principales constituyentes frente a diferentes especies de malezas (Romagni *et al.*, 2000; Azirak y Karaman, 2008). En un estudio del potencial alelopático de aceites esenciales de lamiáceas, Argyropoulos *et al.* (2008) encontraron una fuerte actividad fitotóxica de los aceites de *Salvia* sp. y *Lavandula* sp. sobre 5 especies de malas hierbas de importancia económica. Vokou *et al.* (2003), en un estudio sobre la actividad fitotóxica de 47 monoterpenos frente a *L. sativa*, encontraron que los compuestos con mayor actividad fitotóxica eran el alcanfor, carvacrol y linalol, lo que podría explicar nuestros resultados sobre la potente actividad de los aceites de *Lavandula* sp. y *T. vulgaris* frente a *L. sativa* y *L. perenne*.

3.4. Actividad fungicida

Muchos aceites esenciales de plantas aromáticas se caracterizan por poseer actividad antimicrobiana (Auria *et al.*, 2005; Bozin *et al.*, 2007; Pierozan *et al.*, 2009). Los AEs ensayados inhibieron significativamente el crecimiento del micelio del hongo de las especies de *Fusarium* sp. analizadas, sobre todo los aceites de *T. vulgaris*, *L. latifolia* y *L. x intermedia*. Estos resultados son similares a los obtenidos por Dafeira *et al.* (2003) al comparar la actividad fungicida de *T. capitatus*, *L. angustifolia* y *S. officinalis*; y sugieren que la actividad fungicida podría estar correlacionada positivamente con la proporción de linalol (Pattnaik *et al.*, 1997) y carvacrol (Rota *et al.*, 2008).

Tabla 5
Actividad antifúngica de los AEs ensayados (1 mg/ml) sobre *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum* y *F. solani*

Essential oils	Inhibición del crecimiento del micelio (%I)		
	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. solani</i>
<i>Salvia officinalis</i>	54.34 ± 2.79 ^a EC ₅₀ = 0.87 (0.7-1.0)	59.85 ± 1.92 ^a EC ₅₀ = 0.77 (0.5-1.0)	39.72 ± 2.31 ^a EC ₅₀ = 1.18 (0.1-2.3)
<i>Salvia lavandulifolia</i>	42.28 ± 1.86 ^a EC ₅₀ = 1.11 (0.5-1.7)	47.49 ± 2.08 ^a EC ₅₀ = 0.96 (0.5-1.4)	69.60 ± 8.75 ^a EC ₅₀ = 0.62 (0.3-0.9)
<i>Lavandula latifolia</i>	54.02 ± 1.69 ^a EC ₅₀ = 0.86 (0.6-1.0)	72.05 ± 1.96 ^a EC ₅₀ = 0.60 (0.2-0.9)	67.60 ± 3.62 ^a EC ₅₀ = 0.65 (0.4-0.9)
<i>Lavandula angustifolia</i>	29.91 ± 2.26	55.07 ± 1.91 ^a EC ₅₀ = 0.95 (0.7-1.2)	58.10 ± 6.76 ^a EC ₅₀ = 0.74 (0.2-1.3)
<i>Lavandula x intermedia</i>	61.32 ± 1.81 ^a EC ₅₀ = 0.84 (0.5-1.1)	73.46 ± 2.19 ^a EC ₅₀ = 0.54 (0.3-0.8)	16.73 ± 7.36
<i>Thymus vulgaris</i>	93.61 ± 1.07 ^a EC ₅₀ = 0.25 (0.1-0.6)	89.63 ± 0.97 ^a EC ₅₀ = 0.22 (0.0-0.5)	91.85 ± 1.18 ^a EC ₅₀ = 0.35 (0.0-0.7)

^a ANOVA, p < 0.05.

EC50 (mg/ml) = Dosis que provoca el 50% de la inhibición del crecimiento del micelio del hongo (95% de intervalo de confianza: límites inferior, superior).

4. CONCLUSIONES

En este trabajo se demuestra la complejidad química de los aceites esenciales estudiados. Los compuestos mayoritarios de los aceites pertenecieron a diferentes clases químicas: monoterpenos oxigenados (1,8 cineol, linalol, alcanfor y α -tuyona), monoterpenos hidrocarbonados (α -pineno, β -pineno y p-cimeno), ésteres monoterpénicos (acetato de linalilo) y sesquiterpenos (trans-cariofileno). Las principales diferencias en cuanto a la composición química se debieron a la presencia de los componentes mayoritarios como 1,8 cineol (*Salvia* sp.), α -tuyona (*S. officinalis*), linalilo, alcanfor, acetato de linalilo (*Lavandula* sp.) y carvacrol y p-cimeno (*T. vulgaris*). Los aceites ensayados mostraron una fuerte actividad antialimentaria frente a insectos-plaga, alelopática frente a *L. sativa* y *L. perenne* y antimicrobiana contra hongos fitopatógenos del género *Fusarium*, mostrándose el potencial de estas plantas aromáticas para el desarrollo de agroquímicos naturales.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación, Cultura y Deportes de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (Proyecto PII10-0001), el Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto CTQ2009-14629-C02-01) y el Fondo Social Europeo a través del Programa INCRECYT.

REFERENCIAS

- Abdelgaleil SAM. 2010. Molluscicidal and insecticidal potential of monoterpenes on the whitegander snail, *Theba pisana* (Muller) and the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Appl. Entomol. Zool.* **45**, 425-433.
- Adams RP. 1995. Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Co, Carol Stream, IL. USA.
- Adams RP. 2001. Quadrupole mass spectra of compounds listed in order of their retention time on DB-5. Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Co, Carol Stream, IL, USA, p. 456.
- Argyropoulos E, Eleftherohorinos GI, Vokou D. 2008. *In vitro* evaluation of essential oils from Mediterranean aromatic plants of the Lamiaceae for weed control in tomato and cotton crops. *Allelopathy J.*, **22**, 69-78.
- Auria FD, Tecca M, Strippoli V, Salvatore G, Battinelli L, Mazzanti G. 2005. Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. *Med. Myco.*, **43**, 391-396.
- Azirak S, Karaman S. 2008. Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agr. Scand B-S-P*, **58**, 88-92.
- Boeckelmann A. 2008. Monoterpene production and regulation in lavenders (*Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia*). A thesis submitted for the degree of Master of Science. University of British Columbia, 86p, [https://circle.ubc.ca/handle/2429/2804].
- Boszormenyi A, Hethelvi E, Farkas A, Horvath G, Papp N, Lemberkovics E, Szoke E. 2009. Chemical and genetic relationships among sage (*Salvia officinalis* L.) cultivars and judean sage (*Salvia judaica* Boiss.). *J. Agric. Food Chem.* **57**, 4663-4667.
- Bozin B, Dukic NM, Samojlik I, Jovin E. 2007. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 7879-7885.
- Boland DJ, Brophy JJ, House APN. 1991. Eucalyptus Leaf Oils: Use, Chemistry, Distillation and Marketing. Inkata Press, Melbourne/Sydney.
- Burgueño-Tapia E, Castillo L, González-Coloma A, Nathan PJ. 2008. Antifeedant and phytotoxic activity of the sesquiterpene *p*-benzoquinone perezone and some of its derivatives. *J. Chem. Ecol.* **34**, 766-771.
- Cases A, Pérez B, Navarrete P, Mora E, Peña B, Peluzzo A, Calvo R, Sánchez de Ron D, Varela, F. 2009. Variability in the chemical composition of wild *Thymus vulgaris*. *Acta Hort.* (ISHS), **826**, 159-166.
- Cavanagh HMA, Wilkinson JM. 2002. Biological activities of lavender essential oil. *Phytoter. Res.* **16**, 301-308.
- CBI. 2009. Natural Ingredients for Cosmetics: The EU Market for Essential Oils for Cosmetics. CBI [http://www.cbi.eu].
- Dafera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Prot.*, **22**, 39-44.
- Giménez-Mariño, C. 2006. Productos bioactivos de plantas canarias y sus hongos endófitos: detección de actividad y utilización en el control de plagas y enfermedades agrícolas. Tesis Doctoral. Universidad de La Laguna (España).
- González-Coloma A, Delgado F, Rodilla JM, Silva L, Sanz J, Burillo J. 2011. Chemical and biological profiles of *Lavandula luisieri* essential oils from western Iberia Peninsula populations. *Biochem. System. Ecol.* **39**, 1-11.
- Giannouli AL, Kintzios SE. 2000. Sage, the genus *Salvia*. En Kintzios SE (Ed.). Harwood Academic Publishers, Amsterdam, 69-79.
- Granger R, Passet J. 1973. *Thymus vulgaris* spontane de France: Races chimiques et chemotaxonomie. *Phytochemistry*, **12**, 1683-1691.
- Guillen MD, Cabo N, Burillo J. 1996. Characterisation of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. *J. Sci. Food Agric.* **70**, 359-363.
- Guillén MD, Manzanos MJ. 1998. Study of the composition of the different parts of Spanish *Thymus vulgaris* plant. *Food Chem.* **63**, 373-383.
- Herraiz D, Usano J, Cuadrado J, Jordan MJ, Lax V, Sotomayor JA, Palá J. 2010. Essential oil composition of wild populations of *Salvia lavandulifolia* Vahl. from Castilla-La Mancha (Spain). *Biochem. System. Ecol.* **38**, 1224-1230.
- Hummelbrunner LA, Isman MB. 2001. Acute, Sublethal, Antifeedant, and Synergistic Effects of Monoterpenoid Essential Oil Compounds on the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *J. Agric. Food Chem.* **49**, 715-720.
- Isman MB, Miresmailli S, Machial C. 2011. Commercial opportunities for pesticide based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochem. Rev.* **10**, 197-204.
- Jiang ZL, Akhtar Y, Bradbury R, Isman MB. 2010. Insecticidal and feeding deterrent activities of essential oils in the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera:

- Noctuidae). *J. Appl. Entomol.* doi: 10.1111/j.1439-0418.2010.01587.x.
- Kordali S, Kesdek M, Cakir A. 2007. Toxicity of monoterpenes against larvae and adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ind. Crops Prod.* **26**, 278-297.
- Kumar P, Mishra S, Malik A, Satya S. 2011. Insecticidal properties of *Mentha* species. A review. *Ind. Crops Prod.* **34**, 802-817.
- Lamien A, Schmiderer C, Lohwasser U, Borner A, Franz C, Novak J. 2010. Variability of the essential oil composition in the sage collection of the Genebank Gatersleben. A new viridiflorol chemotipe. *Flavour Fragr. J.* **25**, 75-82.
- Lis-Balchin M. 2002. Phytochemistry of the genus *Lavandula*, en Maria Lis-Balchin (Ed.). *Lavender. The genus Lavandula*. Taylor & Francis, London, 86-99.
- Lubbe A, Verpoorte, R. 2011. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Ind. Crops Prod.* **34**, 785-801.
- MARM. 2010. Anuario de Estadística 2009. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Subdirección General de Estadística. Madrid. NIPO: 770-10-075-7, 546-547.
- Miguel G, Cruz C, Faleiro ML, Simoes MTF, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG. 2011. *Salvia officinalis* L. essential oils: effect of hydrodistillation time on the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *N. Prod. Res.* **25**, 526-541.
- Moiteiro C, Joao M, Curto OM, Mohamed N, Bailen M, Martínez-Díaz R, González-Coloma, A. 2006. Biovalorization of friedelane triterpenes derived from cork processing industry byproducts. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 3566-3571.
- Muñoz-Bertomeu J, Arrillaga I, Segura J. 2007. Essential oil variation within and among natural populations of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochem. System. Ecol.* **35**, 479-488.
- Murabayashi A, Masuko M, Niikawa M, Shirane N, Furuta T, Hayashwi Y, Makisumi Y. 1991. Antifungal and plant growth inhibitory activities of stereo and optical isomers of 2-triazolylcycloalkanol derivatives. *J. Pesticide Sci.*, **16**, 419-427.
- Palá P, Brophy JJ, Goldsack RJ, Fontaniella B. 2004. Analysis of the volatile components of *Lavandula canariensis* (L.) Mill., a Canary Island endemic species, growing in Australia. *Biochem. System. Ecol.*, **32**, 55-62.
- Park BS, Choi WS, Kim JH, Kim KH, Lee, SE. 2005. Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* **21**, 80-83.
- Pattnaik S, Subramanyam VR, Bapaji M, Kole CR. 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios*, **89**, 39-46.
- Pavela R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*, **76**, 691-696.
- Pavela R. 2010. Acute and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the larvae of *Spodoptera littoralis*. *J. Biopes.*, **3**, 573-578.
- Pierozan MK, Pauleti G, Rota L, dos Santos AC, Lerin LA, DI Luccio M, Mossi AJ, Atti-Serafini L, Cansian RL, Vladimiroliveira J. 2009. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils of *Salvia* L. species. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, **29**, 764-770.
- Poitut S, Bues S. 1970. Elevage de plusieurs especes de Lepidopteres Noctuidae sur milieu artificiel simplifié. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* **2**, 79-91.
- Raal A, Oravz A, Araky E. 2007. Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Nat. Prod. Res.* **21**, 406-411.
- Reina M, González-Coloma A; Gutierrez C, Cabrera R, Fajardo ML, Villarroel. 2001. Defensive chemistry of *Senecio miser*. *J. Nat. Prod.*, **64**, 6-11.
- Romagni JG, Allen SN, Dayan FE. 2000. Allelopathic effects of volatile cineols on two weedy plant species. *J. Chem. Ecol.*, **26**, 303-313.
- Rota MC, Herrera A, Martínez RM, Sotomayor Ja. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, **19**, 681-687.
- Thompson JD, Chalchat JC, Michet A, Linhart Y, Ehlers B. 2003. Qualitative and quantitative variation in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J. Chem. Ecol.* **29**, 859-880.
- Thripathi AK, Upadhyay S, Bhuiyan M, Bhattacharya PR. 2009. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacog. Phytother.* **15**, 052-053.
- Torras J, Grau M, López J, Xabier F. 2007. Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *J. Sci. Food Agric.* **87**, 2327-2333.
- Vokou D, Douvli P, Blionis GJ, Halley J. 2003. Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. *J. Chem. Ecol.*, **29**, 2281-2301.

Recibido: 15/12/11
 Aceptado: 17/2/12