



UNAP



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

TESIS

**ACTIVIDAD FITOTÓXICA Y ANÁLISIS DEL PERFIL QUÍMICO POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ACEITES ESENCIALES DE PIPERÁCEAES
POTENCIALES HERBICIDAS NATURALES 2020**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUÍMICO**

PRESENTADO POR:

HENRRY DENNY CABALLERO CEFERINO

ASESORES :

Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.

Ing. LASTENIA RUIZ MESIA, Dra.

Ing. WILFREDO RUIZ MESIA, Dr.

IQUITOS, PERÚ

2022



UNAP

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA
Facultad de Ingeniería Química



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 001-CGT-FIQ-UNAP

En Iquitos, a los veinte y ocho del mes de enero del dos mil veinte y dos, a horas DIEZ A.M., se dio inicio a la sustentación pública de la Tesis titulada: **“ACTIVIDAD FITOTÓXICA Y ANÁLISIS DEL PERFIL QUÍMICO POR CROMATOGRFÍA DE GASES DE ACEITES ESENCIALES DE PIPERÁCEAS POTENCIALES HERBICIDAS NATURALES 2020”**, aprobado con Resolución Decanal N° 015-2022-FIQ-UNAP, presentado por el Bachiller: **Henry Denny Caballero Ceferino**, para optar el título profesional de **Ingeniero Químico**, que otorga la Universidad de acuerdo Ley y Estatuto.

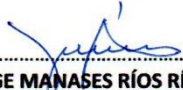
El jurado calificador y dictaminador designado mediante R. D. N° 103-2021-FIQ-UNAP está integrado por:


Ing. JORGE MANASES RÍOS RÍOS, MSc.	Presidente
Ing. JORGE ANTONIO SUÁREZ RUMICHE, MSc.	Miembro
Q.F. FRANK ROMEL LEÓN VARGAS, Dr.	Miembro


Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: EN FORMA SATISFACTORIA

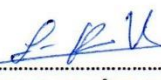
El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:


La sustentación pública y la tesis ha sido: A PROBADA con la calificación BUENO, estando el bachiller apto para obtener el Título Profesional de **Ingeniero Químico**. Siendo las ONCE Y TREINTA AM se dio por terminado el acto de SUSTENTACION.


Ing. JORGE MANASES RÍOS RÍOS, MSc.
Presidente de Jurado


Ing. JORGE ANTONIO SUÁREZ RUMICHE, MSc.
Miembro


Q.F. FRANK ROMEL LEÓN VARGAS, Dr.
Miembro


Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.
Asesora


Ing. LASTENIA RUIZ MESIA, Dra.
Asesora


Ing. WILFREDO RUIZ MESIA, Dr.
Asesor

JURADOS



.....
Ing. JORGE MANASES RÍOS RÍOS, MSc.
Presidente de Jurado



.....
Ing. JORGE ANTONIO SUÁREZ RUMICHE, MSc.
Miembro



.....
Q.F. FRANK ROMEL LEÓN VARGAS, Dr.
Miembro

ASESORES



.....
Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.
Asesora



.....
Ing. LASTENIA RUIZ MESIA, Dra.
Asesora



.....
Ing. WILFREDO RUIZ MESIA, Dr.
Asesor

DEDICATORIA

A Dios. Por darme inteligencia y la capacidad para desarrollar todas mis actividades, entender, aprender y comprender todas las enseñanzas dadas por nuestros docentes en las aulas.

A mis padres, Por poner todo el empeño y el esfuerzo en apoyarme en mi estudio, por confiar en mí y sobre todo brindarme todo lo necesario para desarrollarme como estudiante competente y ser un profesional de éxito y calidad.

A mis hermanos, Por estar siempre a mi lado para ser un ejemplo de superación y que en esta vida con esfuerzo y dedicación todos los sueños si se pueden cumplir.

A mi hijo, Por ser motor y motivo de mi superación

A mis amigos, Por compartir momentos muy agradables durante esta etapa de mi vida

AGRADECIMIENTO

Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT) del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), por el financiamiento para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonía (LIPNAA), Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonia (CIRNA) – Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP). Por la enseñanza y su espacio brindado para poder llevar a cabo la tesis de investigación

A la Dra. Liliana Ruiz Vásquez. Por ser mi guía, transmitir sus conocimientos y permitirme ser parte del proyecto, “Bioplaguicidas naturales basados en aceites esenciales de Piperáceas: una alternativa para el control de plagas en cultivos agrícolas”.

A la Dra. Lastenia Ruiz Mesia, Por su ayuda y orientación en la realización de este proyecto de investigación

Al Dr. Wilfredo Ruiz Mesia, por su orientación y enseñanza en los temas de Química Orgánica

A la Ing. Hivelli Ericka Ricopa Cotrina, Por ser mí guía en todas las actividades que he realizado.

A todo el equipo del centro de investigación, mis amigos y familiares que me dieron su apoyo.

ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	ii
JURADOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXO	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes.....	3
1.2. Bases teóricas	4
1.2.1. Generalidades de la familia Piperaceae	4
1.2.2. Generalidades del género Piper.....	4
1.2.3. Actividades Biológicas de los aceites esenciales de <i>Piper</i>	5
1.2.3.1. Metabolitos secundarios.....	7
1.2.4. Aceites esenciales y su manejo en el control de malas hierbas.....	20
1.2.5. Compuestos con efectos fitotóxicos.....	21
1.2.5.1. Compuestos α y β -pineno	21
1.2.5.2. Compuesto 1,8-cineol.....	22
1.2.5.3. Compuesto Carvacrol	22
1.2.6. Herbicidas.....	27
1.2.6.1. Mecanismos de acción de los herbicidas.....	28
1.2.6.1.1. Herbicidas que interfieren con la fotosíntesis	28
1.2.7. Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS)...	32
1.2.8. Ensayos de fitotoxicidad	34
1.3. Definición de Términos Básicos.....	35
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	37
2.1. Formulación de la hipótesis.....	37
2.2. Variables y su operacionalización	37

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	39
3.1. Tipo y Diseño	39
3.1.1. Tipo de Investigación.....	39
3.1.2. Diseño de Investigación	39
3.2. Diseño Muestral.....	39
3.2.2. Muestras Vegetales	39
3.2.2.1. <i>Piper coruscan Kunth.</i>	40
3.2.2.2. <i>Piper sancti-felicis Trel.</i>	40
3.2.2.3. <i>Piper casapiense (Miq) C. DC.</i>	40
3.2.2.4. <i>Piper obliquum Ruiz & Pav.</i>	40
3.2.2.5. <i>Piper anonifolium (Kunth).</i>	41
3.2.2.6. <i>Piper tuberculatum Jacq.</i>	41
3.2.2.7. <i>Piper dumosum Rudge</i>	41
3.2.2.8. <i>Piper reticulatum L.</i>	41
3.2.2.9. <i>Piper soledadense Trel.</i>	42
3.2.2.10. <i>Piper mituense Trel. & Yunck.</i>	42
3.3. Procedimiento de Recolección de Datos.....	42
3.3.1. Recolección de las Muestras.....	42
3.3.2. Preparación de las Muestras.....	42
3.4. Protocolos de ensayos	43
3.4.1. Metodo de obtención de los aceites esenciales:.....	43
3.4.2. Actividad fitotóxica	43
3.4.2.1. Ensayo de actividad fitotóxica (anexo 3):.....	43
3.4.3. Metodo de identificación de compuestos por cromatografía de gases acoplada a masa.....	44
3.5. Materiales y/o reactivos, instrumentos y equipos.	44
3.5.1. Materiales para la extracción de aceites esenciales.	44
3.5.2. Materiales para ensayo de actividad fitotóxica.....	45
3.5.3. Materiales para la identificación de compuestos químicos por cromatografía de gases acoplada a masa.....	45
3.5.4. Solventes.....	45
3.5.5. Equipos.....	45
3.6. Procesamiento y Análisis de los Datos.....	46
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	47
4.1. Datos obtenidos de las especies vegetales del genero Piper.	47
4.2. Evaluación de los efectos fitotóxicos de las especies Piper frente a <i>Lolium perenne L.</i>	48
4.3. Evaluación de los efectos fitotóxicos de las especies Piper frente <i>Lactuca sativa F.</i>	49

4.4. Resultados de metabolitos secundarios de los aceites esenciales analizados por cromatografía de gases aclopadado a masa.....	50
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	52
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....	56
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES.....	57
CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	58
ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación Taxonómica del género <i>Piper</i>	5
Tabla 2. Principales metabolitos secundarios y actividades biológicas de especies de <i>Piper</i>	14
Tabla 3. Principales metabolitos secundarios que presentan actividad fitotóxica en las especies de Piper	24
Tabla 4. Variables y Operacionalización.....	38
Tabla 5. Porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de las especies vegetales del género piper	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. : Hidrocarburos Monoterpénicos	9
Figura N° 2. Monoterpenos Oxigenados	10
Figura N° 3. Hidrocarburos sequiterpénicos.....	11
Figura N° 4. Sesquiterpenos oxigenados	12
Figura N° 5. Fenilpropanoides.....	13
Figura N° 6. Actividad fitotóxica de los aceites esenciales del género Piper estudiados, sobre <i>Lolium perenne L.</i>	48
Figura N° 7. Actividad fitotóxica de los aceites esenciales de las especies del género Piper estudiados, frente <i>Lactuca sativa F.</i>	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Especies vegetales de Piper, código de exicata, parte de la planta, lugar de recolección y ubicación en Universal Transverse Mercator (UTM)	70
Anexo N° 2: Constancia de identificación taxonómica de las especies vegetales del género Piper.....	71
Anexo N° 3: Procedimiento para la obtención de aceites esenciales y ensayos de actividad fitotóxica.....	72
Anexo N° 4: Metabolitos secundarios identificados por cromatografía de gases-masa en las especies de Piper con mejor actividad Fitotóxica.	73
Anexo N° 5: Constancia de análisis de muestras de aceites esenciales de las especies de Piper por cromatografía de gases acoplado a masas.	76

RESUMEN

La aplicación anual de herbicidas en el mundo aumenta cada año, debido a que hay grandes pérdidas de los cultivos a causa de las malezas, como alternativa a esto tenemos el uso de agroquímicos, especialmente herbicidas, que pueden constituir la única manera eficaz de defender temporalmente un cultivo de las malas hierbas. Sin embargo, hoy en día, se aplican herbicidas peligrosos en los campos, causando daños a los agricultores, los consumidores y el medio ambiente. Debido a esto se propone la búsqueda de nuevas alternativas, como la identificación de sustancias naturales con efectos alelopáticos para la obtención de herbicidas naturales. Los aceites esenciales son una clase adecuada de aleloquímicos para ser utilizados como bioherbicidas debido a su biodegradabilidad, alta diversidad estructural y resistencia natural reduciendo las malas hierbas.

El objetivo de este trabajo de investigación es la búsqueda de potenciales fitotóxicos a partir de los aceites esenciales de especies vegetales de la familia Piperaceae. Para la extracción de los diez (10) aceites esenciales se utilizó el método de hidrodestilación, las especies son: *P. coruscan* Kunth, *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C. DC, *P. obliquum* Ruiz & Pav, *P. anonifolium* (Kunth), *P. tuberculatum* Jacq, *P. dumosum* Rudge, *P. reticulatum* L, *P. soledadense* Trel y *P. mituense* Trel & Yunck. Los aceites esenciales fueron ensayados frente a la monocotiledónea *Lolium perenne* L. y la dicotiledónea *Lactuca sativa* F. Como resultado se observó que todos los aceites esenciales de *Piper*, fueron activos frente a *L. perenne* L, mientras que solo los aceites esenciales de *P. sancti-felicis* Trel, *P. mituense* Trel & Yunck, *P. reticulatum* L y *P. casapiense* (Miq) C. DC, fueron activos frente a *L. sativa* F.

En el análisis por cromatografía de gases acoplada a masas de los aceites esenciales que presentaron los mejores resultados de actividad fitotóxica frente *L. perenne* L. y *L. sativa* F, fueron *P. sancti-felicis* Trel (76,08%), *P. mituense* Trel & Yunck (51,58%), *P. reticulatum* L (14,99%), que tienen como compuesto mayoritario al fenilpropanoide apiol y *P. casapiense* (22,64%) al compuesto biciclo[5,2,0]nonane, 2-metileno-4,8,8-trimetil-4-vinil.

Palabras clave: *Piper*, aceites esenciales, metabolitos secundarios y fitotoxicidad.

ABSTRACT

The annual application of herbicides in the world increases every year, due to the great losses of crops due to weeds, as an alternative to this, we have the use of agrochemicals, especially herbicides, which may be the only effective way to temporarily defend a weed crop. However, nowadays, dangerous herbicides are applied in the fields, causing harm to farmers, consumers and the environment. Due to this, the search for new alternatives is proposed, such as the identification of natural substances with allelopathic effects to obtain natural herbicides. Essential oils are a suitable type of allelochemicals to be used as bioherbicides due to their biodegradability, high structural diversity, and natural resistance to reducing weeds.

The objective of this research is to search for phytotoxic potentials from the essential oils of plant species of the Piperaceae family. For the extraction of the ten (10) essential oils, the hydrodistillation method was used, the species are: *P. coruscan* Kunth, *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C. DC, *P. obliquum* Ruiz & Pav, *P. anonifolium* (Kunth), *P. tuberculatum* Jacq, *P. dumosum* Rudge, *P. reticulatum* L, *P. soledadense* Trel y *P. mituense* Trel & Yunck. Essential oils were tested against the monocot *Lolium perenne* L. and the dicot *Lactuca sativa* F. As a result, it was observed that all *Piper* essential oils were active against *L. perenne* L, while only the essential oils of *P. sancti-felicis* Trel, *P. mituense* Trel & Yunck, *P. reticulatum* L and *P. casapiense* (Miq) C. DC. were active against *L. sativa* F.

In the analysis by gas chromatography pinned to masses of the essential oils that presented the best results of phytotoxic activity against *L. perenne* L and *L. sativa* F, were *P. sancti-felicis* (76,08%), *P. mituense* (51, 58%), *P. reticulatum* (14,99%), which have the phenylpropanoid apiol as the main compound and *P. casapiense* (22,64%) to the bicyclic compound [5,2,0] nonane, 2-methylene-4, 8,8-trimethyl-4-vinyl.

Keywords: *Piper*, essential oils, secondary metabolites, and phytotoxicity

INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de este siglo, la aplicación anual de herbicidas en el mundo ha aumentado de 0,65 a 2 millones de toneladas, pero la producción anual de alimentos en el mismo período aumentó de 1,9 a 2,1 billones de toneladas (12,3%) (Shah et al., 2016).

La pérdida anual de la economía global causada por las malezas se ha estimado que es de US\$ 100 mil millones de dólares (Swanton et al., 2015), como alternativa a esto tenemos el uso de agroquímicos, especialmente herbicidas, necesarios para controlar las plagas con el fin de producir alimentos adecuados para la población mundial (Mensah et al., 2015).

Los plaguicidas pueden constituir la única manera eficaz de defender temporalmente un cultivo de las malas hierbas (Ojeda D'Ugard, 2018). Sin embargo, hoy en día, se aplican herbicidas peligrosos en los campos, causando daños a los agricultores, los consumidores y el medio ambiente (Choopayak et al., 2015).

Sin embargo, muchas especies de malezas han desarrollado resistencia a los herbicidas debido a la mayor capacidad metabólica para desintoxicar estas sustancias (resistencia metabólica) siendo un problema importante. La resistencia a los herbicidas se hizo evidente por primera vez en la década de 1980 en Australia (*Lolium rigidum*) y en Reino Unido (*Alopecurus myosuroides*). Ahora se reconoce cada vez más la inminente amenaza para la sostenibilidad de los herbicidas y, por lo tanto, en la producción de cultivos a nivel mundial (Yu & Powles, 2014).

Una alternativa factible podría ser la identificación de sustancias naturales con efectos alelopáticos para la realización de herbicidas naturales (Choopayak et al., 2015; Ojeda D'Ugard, 2018). La ventaja en la utilización de tales compuestos naturales es el rápido proceso de descomposición en el medio ambiente y, por lo tanto, la posible aplicación en la agricultura sostenible como la agricultura orgánica (Ojeda D'Ugard, 2018).

Los aceites esenciales son una clase adecuada de aleloquímicos para ser utilizados como bioherbicidas debido a su biodegradabilidad, alta diversidad estructural y resistencia natural reduciendo las malas hierbas (Abd El-Gawad, 2016). Los aceites esenciales de *P. auritum* y *P. hispidum* presentaron un potencial efecto

alelopático inhibiendo la germinación de las semillas y crecimiento de malezas. El constituyente químico mayoritario de estas especies fue safrol (60 a 70%). Sin embargo, el α y β -pineno en *Piper auritum*, apenas está presente, pero son los responsables de la actividad (Rizvi, 1992).

Como se ha indicado los pesticidas sintéticos presentan residuos peligrosos que se incorporan en las plantas y el suelo, entrando así en la cadena alimentaria y causando grandes daños a la salud y el medio ambiente. En base a los antecedentes este trabajo de investigación tuvo como objetivo la búsqueda de herbicidas naturales a partir de los aceites esenciales de diez (10) especies del género *Piper*.

En este trabajo para la obtención de los aceites esenciales se empleó el método de hidrodestilación y los aceites esenciales obtenidos se evaluaron la actividad biológica y fitotóxica frente a *Lolium perenne*. L (monocotiledónea) y *Lactuca Sativa*. F (dicotiledónea), obteniendo como resultado que todos los aceites esenciales de *Piper*, fueron activos frente a *Lolium perenne*. L., mientras que solo los aceites esenciales de *P. sancti-felicis* Trel, *P. mituense* Trel & Yunck, *P. reticulatum* L. y *P. casapiense* (Miq) C.DC. Fueron activos frente a *L. sativa* .F.

Los resultados de los análisis por cromatografía de gases acoplada a masas de las 10 especies del género *Piper*, solo 4 presentaron actividad fitotoxica frente *L. perenne* L y *L. sativa* F, fueron *P. sancti-felicis* Trel (76,08%), *P. mituense* Trel & Yunck (51,58%), *P. reticulatum*. L (14,99%), que tienen como compuesto mayoritario al fenilpropanoide apiol y *P. casapiense* (22,64%) al compuesto biciclo[5,2,0]nonane, 2-metileno-4,8,8-trimetil-4-vinil.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En una investigación cuantitativa, evaluaron el extracto metanol/agua de *Piper sarmentosum*, en sus resultados encontraron sustancias con potencial actividad alelopática inhibiendo el crecimiento de especies de plantas como *Lepidium sativum*, *Lactuca sativa*, *Lolium multiplorum* y *Medicago sativa*, dependiente de la dosis, se sugiere que el ácido 3-fenilpropiónico puede funcionar como sustancia alelopática a través de la inhibición del crecimiento de especies de plantas vecinas (Piyatida et al., 2012).

En un estudio cuantitativo, identificaron que los componentes principales del aceite esencial de *Piper hispidinervum*, son safrol (78-81%), y terpinoleno (5-9%), donde se observó que safrol afecta la germinación de *Lycopersicum solani* y *Lactuca sativa* a las 24 h de tratamiento y terpinoleno afectó el crecimiento de la raíz de *Lycopersicum Solani*. Además, esta especie presentó actividad antialimentaria y nematocida (Andrés et al., 2017).

En una investigación ha identificado una gran diversidad de compuestos químicos en diferentes especies del género *Piper*, que pertenecen a diferentes clases, que incluye alcaloides, amidas, cromenos, derivados de ácidos benzoicos, lignanos, neolignanos, propenilfenoles, terpenos, esteroides, chalconas, dihidrochalconas, flavonas, flavanonas, kavalactonas, piperólidos, ceramidas, ácidos grasos, flavonoides y aceites esenciales (Takeara et al., 2017).

Se realizó un estudio cuantitativo, en las que identificaron los aceites esenciales de *P. divaricatum* (eugenol, metil eugenol y γ -elemene); *P. dilatatum* (apiol y trans-cariofileno), *P. sanctifelicis* (δ -3-careno, limoneno, *p*-cimeno, β -pineno y nerolidol) y *P. a ff. hispidum* (limoneno, δ -3-careno, *p*-cimeno, elemol y espatulenol). Además, los aceites esenciales de *P. dilatatum* y *P. divaricatum* mostraron una fuerte actividad herbicida frente a *Lolium perenne* y *P. a ff hispidum*, redujo el crecimiento de la raíz de *Lactuca sativa* (Jaramillo-Colorado et al., 2019).

En un estudio, evaluaron la actividad herbicida del aceite esencial de *Piper cubeba* y *P. nigrum*. Donde *P. cubeba* mostró mayor actividad inhibiendo la germinación y el crecimiento de *Bidens pilosa* y *Echinochloa crus-galli*. En el

análisis de cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS) y cromatografía de líquidos-ionización por electroespray-espectrometría de masas (LC-ESI-MS), revelaron que los componentes principales para *P. nigrum* fueron β -cariofileno (51,12%) y β -tujeno (20,58 %) y de *P. cubeba* son Terpinen-4-ol (42,41%), α -copaeno (20,04%) y γ -elemeno (17,68%). Los aceites esenciales de estas plantas pueden ser útiles para controlar *Bidens pilosa* y *Echinochloa crus-galli*, las dos malezas más invasivas y problemáticas en la práctica agrícola (Andriana et al., 2019).

En un estudio cuantitativo evaluaron el extracto acuoso de hoja de *Piper betle* L. sobre la germinación, el crecimiento y la fisiología del frijol mungo (*Vigna radiata* (L.), inhibiendo la actividad de la α -amilasa, que puede afectar la síntesis de proteínas de las semillas, causando así la no germinación de las mismas (Thonsoongnern & Phraprasert, 2019).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Generalidades de la familia Piperaceae

La Familia Piperaceae, también conocida como la familia de la pimienta, contiene alrededor de 3600 especies, constituida por 13 géneros, que se encuentran distribuidos en dos géneros principales: *Piper* (2000 especies) y *Peperomia* (1600 especies) (Oyemitan, 2017).

Esta familia ha proporcionado a muchas civilizaciones pasadas y presentes una fuente de diversos medicamentos y especias que presentan un alto valor alimenticio (Scott et al., 2008). Se encuentran muy extendidos en regiones tropicales y subtropicales y son comunes especialmente en América del Sur y Central, y en Asia central (Kuete et al., 2013).

1.2.2. Generalidades del género Piper.

El género *Piper* pertenece a la familia de las Pieraceae, es el más grande de la familia, con aproximadamente 2000 especies. En Perú esta familia está representada por tres géneros y 830 especies, de las cuales aproximadamente 324 pertenecen al género *Piper* (Jaramillo & Manos, 2001; León, 2013; Takeara et al., 2017).

Las *Piper* pueden ser pequeños árboles, arbustos, hierbas o enredaderas (Kuetze et al., 2013). Se conocen como “cordoncillos”, debido a la presencia de diminutas flores agrupadas en una inflorescencia en forma de espiga o en racimos, con androceo formado entre 1-10 estambres y gineceo de 1-4 carpelos, poseen tallos nudosos, sus hojas son variadas, siempre simples, alternas, frecuentemente enteras, elípticas u ovaladas (Jaramillo et al., 2008; Parra Amin, 2011).



Tabla 1. Clasificación Taxonómica del género Piper

Clasificación Taxonómica*	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Piperales
Familia	Piperaceae
Género	<i>Piper</i>
Nombre común	Cordoncillo, mático

Fuente:(León, 2013; Oyemitan, 2017)

1.2.3. Actividades Biológicas de los aceites esenciales de *Piper*

Se ha identificado una gran diversidad de compuestos químicos de las especies del género *Piper*, que pertenecen a diferentes clases, que incluye alcaloides, amidas, cromenos, derivados de ácidos benzoicos, lignanos, neolignanos, propenilfenoles, terpenos, esteroides, chalcones, diidrochalcones, flavonas, flavanonas, kavalactonas, piperólidos, ceramidas, ácidos grasos, flavonoides y aceites esenciales (Takeara et al., 2017).

Los aceites esenciales son ampliamente utilizados en las industrias de alimentos, cosmética, salud y agricultura (Laosinwattana et al., 2018). Estos se extraen de los tejidos de las plantas generalmente por hidrodestilación (Abd El-

Gawad, 2016), son líquidos hidrófobos que contiene compuestos aromáticos volátiles. Se sabe que los aceites esenciales extraídos de diferentes órganos de especies del género *Piper* están constituidos principalmente por terpenos del tipo monoterpénicos (figuras 1 y 2) y sesquiterpénicos (figuras 3 y 4), además de fenilpropanoides (figura 5) y otros compuestos minoritarios (Da Silva et al., 2017; Nascimento et al., 2012; Parmar et al., 1997; Paz et al., 2017). Las especies del género *Piper* se caracterizan por presentar diversas actividades biológicas y son utilizadas en farmacopeas a nivel mundial. También se usan en la medicina popular para el tratamiento de diferentes enfermedades en muchos países (Takeara et al., 2017).

Debido a la gran variedad de metabolitos secundarios y a los diferentes tejidos de los que se obtuvieron los aceites esenciales, es difícil resumir la naturaleza de los mismos en *Piper*. Sin embargo, se ha identificado que hay más de 270 compuestos en los aceites esenciales. (Mgbeahuruike et al., 2017). Otros autores afirman que identificaron más de 80 compuestos en especies *Piper* spp de origen Chino (Xiang et al., 2017). Los compuestos identificados pertenecen principalmente a las clases de hidrocarburos mono y sesquiterpénicos, seguidos de aldehídos, alcoholes, ácidos, cetonas, ésteres y fenoles (Mgbeahuruike et al., 2017; Salehi et al., 2019).

Según algunos autores indican que los aceites esenciales de frutos son químicamente menos diversos que en las partes aéreas, siendo los hidrocarburos sesquiterpénicos y los compuestos oxigenados los más importantes en estas partes de la planta. El β -cariofileno es el compuesto más importante en el aceites esenciales de frutos, y menos importante en las hojas (Mgbeahuruike et al., 2017; Salehi et al., 2019).

Los aceites esenciales de las especies de *Piper* son ricos en todas las clases de compuestos químicos volátiles, pero la composición es muy variable, tanto inter como intra específicamente, y estas diferencias parecen depender del polimorfismo, parte de la planta, diferencias geográficas, condiciones ambientales y quimiotipos (da Silva et al., 2017; Salehi et al., 2019; Thin et al., 2018).

También hay que resaltar la importante actividad de como se ha indicado la mayoría de las especies de *Piper* son biológicamente activas (Andriana et al., 2019; Mesquita et al., 2006; Prakash et al., 2014) y han demostrado importante actividad como antioxidante, insecticida (Rojas E Silva Aizzo, 2013), antiinflamatorio, inhibidor enzimático, tripanocida, antiplaquetario, antiofídico, antipalúdico, ansiolítico/antidepresivo, antituberculoso, antidiabético, herbicida, hepatoprotector, alelopático, antibacteriano (*Helicobacter pylori*) (Nascimento et al., 2012), antimicrobiano (Saga Kitamura et al., 2006), amebicida (Sauter et al., 2012), antitumoral (Girola et al., 2015), diurético (Novaes et al., 2014; Takeara et al., 2017), antialimentario, nematocida y fitotóxico (Andrés et al., 2017; Jaramillo-Colorado et al., 2019) (ver tabla 2).

1.2.3.1. **Metabolitos secundarios**

Terpenos: también conocidos como isoprenoides, son los productos naturales más numerosos y estructuralmente diversos. El nombre genérico "terpeno" se aplicó originalmente a los hidrocarburos aislados de la trementina, el sufijo "ene" indica la presencia de enlaces olefínicos (Ludwiczuk et al., 2017).

Los terpenoides se clasifican en función del número y la organización estructural de los carbonos formados por la disposición lineal de las unidades de isopreno seguida de la ciclación y reordenamientos del esqueleto de carbono con una característica empírica conocida como la regla del isopreno. El isopreno, es el 2-metilbuta-1,3-dieno (C₅H₈) por lo tanto, representa la clase más básica de terpenoides (Ludwiczuk et al., 2017).

La biosíntesis de los precursores químicos de isopreno, pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP) y pirofosfato de isopentenilo (IPP) se produce por dos rutas metabólicas diversificadas, la ruta del mevalonato (MEV) y la ruta del 2C-metil-D-eritriol-4-fosfato (MEP) (Noriega, 2020).

Pirofosfato de demetilalilo y el pirofosfato de isopentilo son hemiterpenos y son responsables de formar las diversas subclases de compuestos que componen los terpenos. Además, estos polímeros de isopreno pueden ser lineales o pueden formar anillos y adherir a su estructura átomos de oxígeno y nitrógeno. El número aproximado de terpenos conocidos se acerca a los 55.000 compuestos (Noriega, 2020).

El uso de terpenoides está implicado en interacciones alelopáticas como fuentes de nuevos modelos agroquímicos que podrían satisfacer los requisitos de protección de cultivos y manejo de malezas (Amri et al., 2013). Muchos de los compuestos identificados en el género *Piper*, presentan importantes actividades biológicas (Da Silva et al., 2017; Nascimento et al., 2012; Parmar et al., 1997; Paz et al., 2017).

Monoterpenos: consisten en una estructura de 10 átomos de carbono (2 unidades de isopreno) y se pueden dividir en tres subgrupos: acíclico, monocíclico y bicíclico. Muestran gran variabilidad de hidrocarburos, alcoholes, aldehídos y otros compuestos oxigenados que, en conjunto, engloban gran cantidad de isómeros no sólo funcionales sino también de posición y geométricos. Están considerados como una de las más grandes familias de productos naturales (Ludwiczuk et al., 2017; Noriega, 2020).

Los compuestos más importantes que se encuentran en los aceites esenciales de *Piper* son hidrocarburos monoterpénicos (α -pineno, mirceno, limoneno, α -terpineno, *p*-cimeno, β -pineno, α -felandreno, (*Z*)- β -ocimeno), monoterpenoides oxigenados (1,8 cineol, linalol, terpinen-4-ol, borneol, alcanfor). En la tabla 2, se puede observar los monoterpenos más importantes de algunas especies de *Piper* (Da Silva et al., 2017; Salehi et al., 2019) (ver tabla 2, figuras 1 y 2).

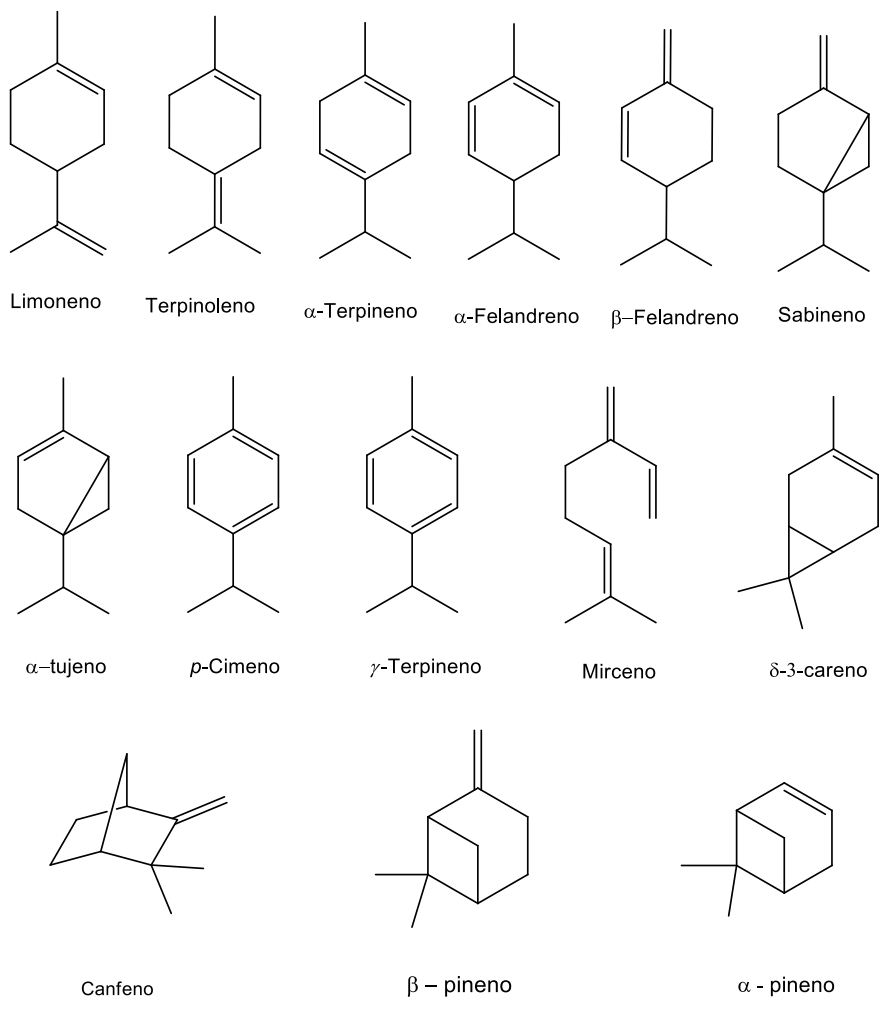


Figura N° 1. : Hidrocarburos Monoterpénicos

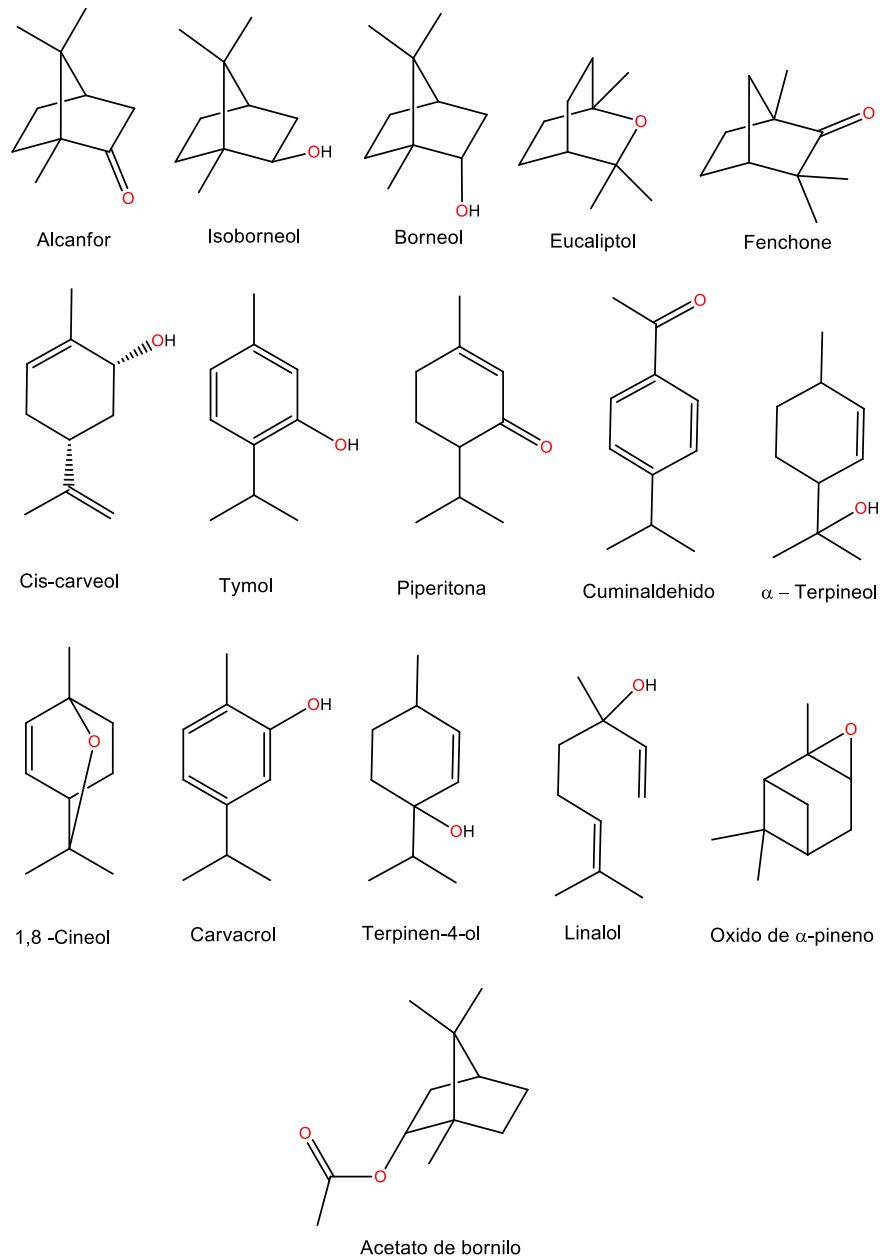


Figura N° 2. Monoterpenos Oxigenados

Sesquiterpenos: se derivan de tres unidades de isopreno y existen en una amplia variedad de formas, estructuras lineales, monocíclicas, bicíclicas y tricíclicas. Son el grupo de terpenoides más diverso (Ludwiczuk et al., 2017).

Los hidrocarburos sesquiterpénicos (β -elemeno, β -sesquifelandreno, (*Z*)- β -bisaboleno, (*Z,Z*)- α -farneseno, *ar*-curcumeno, α -zingibereno, δ -cadineno, β -cariofileno, α -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, α -cubebeno) y sesquiterpenoides oxigenados (espatulenol, (*E*)-nerolidol, óxido de cariofileno,

α -cadinol, *epi*- α -bisabolol) son metabolitos secundarios que se encuentran comúnmente en las especies de *Piper*. En la tabla 2, se muestra sesquiterpenos de *Piper* (figuras 3 y 4) (Da Silva et al., 2017; Salehi et al., 2019) .

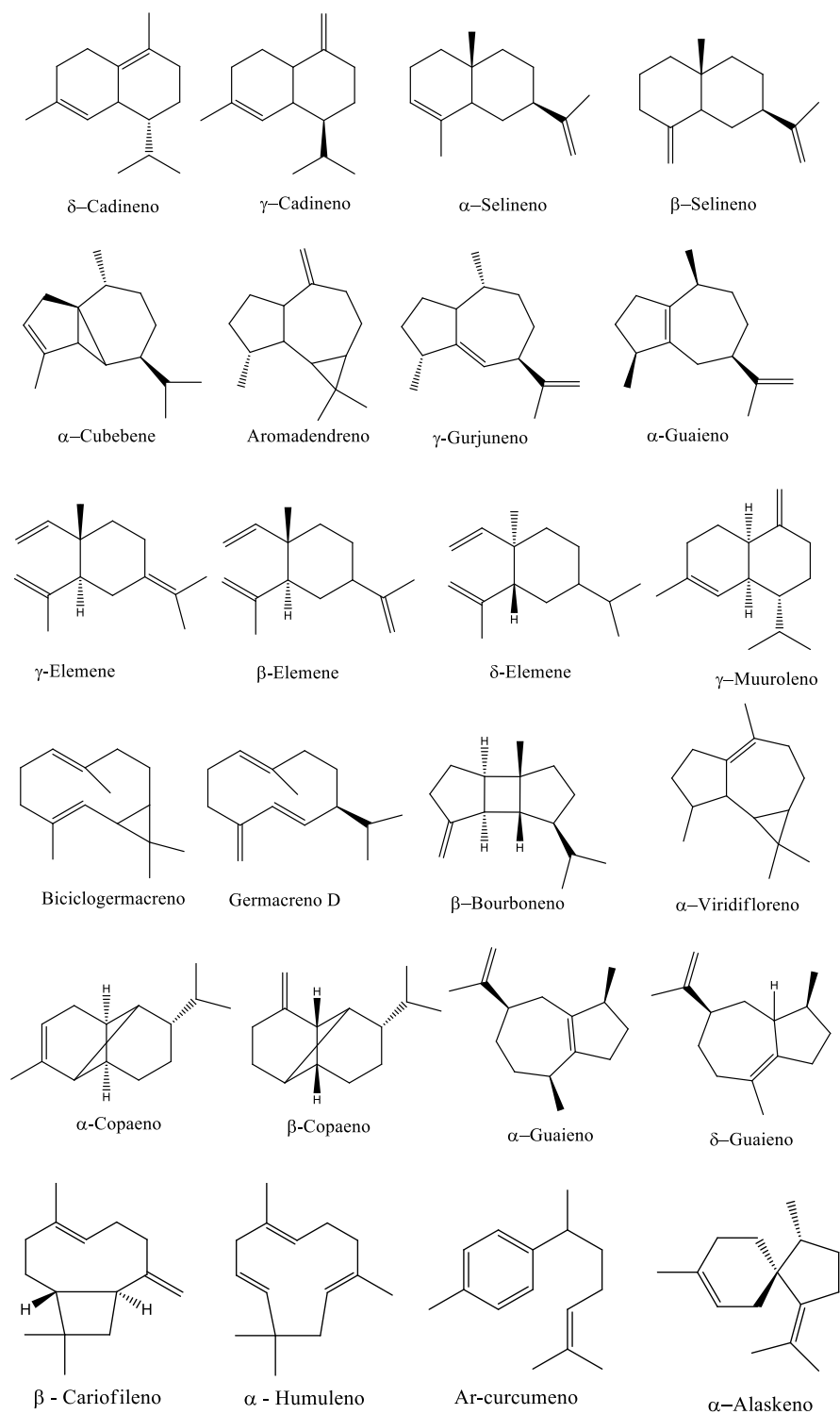


Figura N° 3. Hidrocarburos sesquiterpénicos

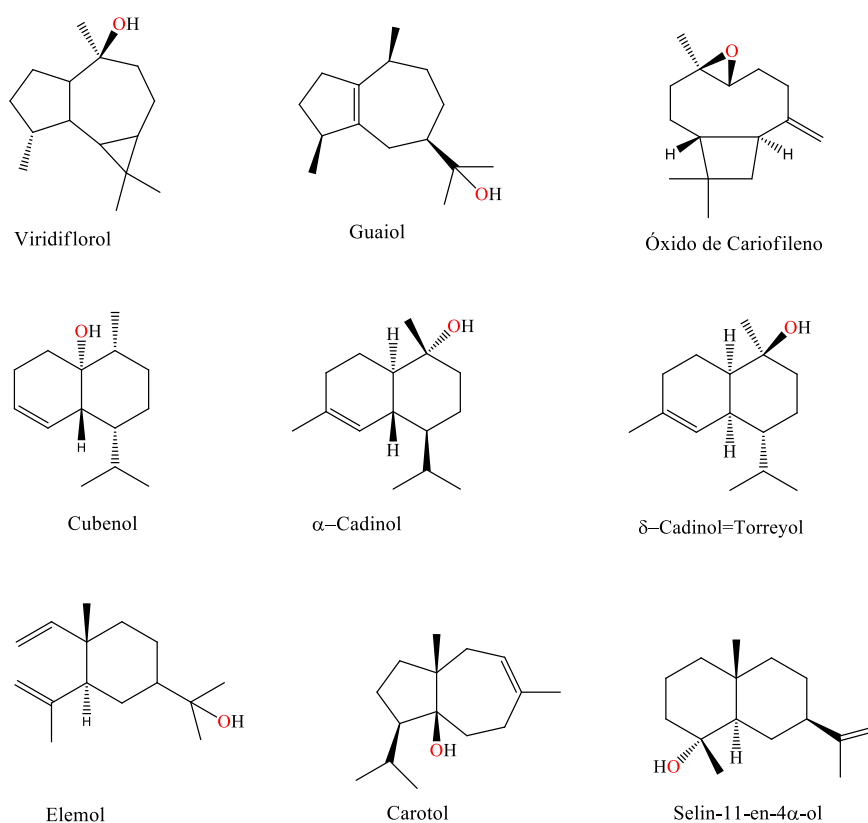


Figura N° 4. Sesquiterpenos oxigenados

Fenilpropanoides (F): Son compuestos que también pueden encontrarse en los aceites esenciales de especies de *Piper* (tabla 2, figura 5). Biogénicamente derivan del ácido shikímico, llamada la “ruta de los fenilpropanoides o del ácido shikímico”, a través de la cual las especies vegetales biosintetizan más de 8000 compuestos fenólicos y polifenólicos cuya característica más relevante es su actividad antioxidante (Gordo, 2018). Los fenilpropanos son sustancias naturales ampliamente distribuidas en los vegetales caracterizados por un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos.

Los fenilpropanoides más representativos del género *Piper* son safrol, dilapiole, miristicina, elemicina, (Z)-asarona, eugenol y presentan importantes actividades biológicas (Da Silva et al., 2017; Nascimento et al., 2012; Parmar et al., 1997; Paz et al., 2017).

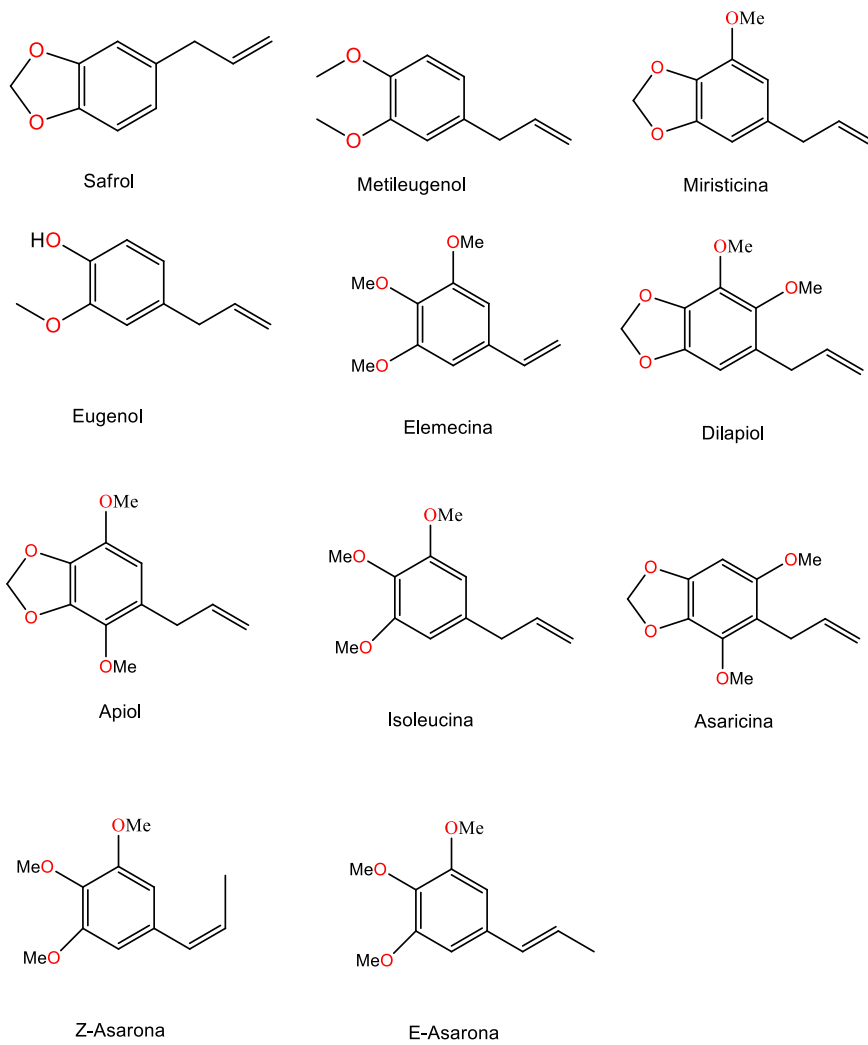


Figura N° 5. Fenilpropanoides

Tabla 2. Principales metabolitos secundarios y actividades biológicas de especies de Piper.

Especies	Origen	Parte de la planta	Principales metabolitos secundarios	Propiedades biológicas	Referencia
<i>P. angustifolium</i>	Brasil	Hojas	Espatulenol (SO); óxido de cariofileno (SO)	Leishmanicida (<i>L. infantum</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. anonifolium</i>	Bahia-Brasil	Partes aéreas	α -pineno (MH); β -selineno (S); α -selineno (S); selin-11-en-4- α -ol (S)	Citotóxico; antifúngico, antioxidante, Anticolinesterasa	(Takeara et al., 2017)
<i>P. aleyreanum</i>	Porto velho-Brasil	Hojas, tallos, partes aéreas	Óxido de cariofileno (SO); Espatulenol (SO); β -pineno (MH); canfeno (MH); δ -elemeno (SH); β -elemeno (SH); β -cariofileno (SH); germacreno D (SH); biciclogermacreno (SH)	Antinociceptivo; antiinflamatorio; antiulceroso, citotóxico; antifúngico, antioxidante	(Takeara et al., 2017)
<i>P. aduncum</i>	Bocaiuva-Brasil	Frutas, hojas	β -pineno (MH); E- cariofileno (SH); β -cubebeno (SH); β -elemeno (SH); α -copaeno (SH); α -farneseno (SH); 1,8-cineol (MO); α -terpineol (MO); dillapiol (F)	Larvicida (<i>A. aegypti</i>); antihelmíntico (<i>Haemonchus contortus</i>); ixodicida (<i>Rhipicephalus</i>) (Boophilus) (<i>microplus</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. callosum</i>	Amazonas -Brasil	Hojas	Safrol (F)	Antifúngico (<i>C. pernicioso</i> , <i>P. palmivora</i> y <i>P. capsici</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. cernuum</i>	Sao Paulo-Brasil	Sucursales	Canfeno (MH)	Antitumoral	(Takeara et al., 2017)
<i>P. cubeba</i>	Jatiroto-Indonesia	Hojas y Ramas	Terpinen-4-ol (MO), α -copaeno (SH)	Mostró mayor actividad inhibiendo la germinación y el crecimiento de <i>Bidens pilosa</i> y <i>Echinochloa crus-galli</i> .	(Bos et al., 2007)
<i>P. cubeba</i>	Narela delhi-India	Frutos	Sabineno (MH), eucaliptol (MO), Terpinen-4-ol (MO), β -pineno (MH), alcanfor (MO), δ -3-careno (MH), α -tujeno (MH), canfeno (MH), felandreno (MH), cis-carveol (MO), asarona (F), hedyariol (SO)	Citotoxicidad	(Magalhães et al., 2012)
<i>P. corcovadensis</i>	Paraiba-Brasil	Hojas	terpinoleno (MH), <i>trans</i> -cariofileno (SH); α -pineno (MH)	Larvicida (<i>A. aegypti</i> L.)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. diospyrifolium</i>	Brasil	Hojas	γ -muuroleno (SH); limoneno (MH); germacreno (SH)	Antifúngico	(Takeara et al., 2017)

Especies	Origen	Parte de la planta	Principales metabolitos secundarios	Propiedades biológicas	Referencia
<i>P. enckea</i>	Brasil	Hojas	-----	Antifúngico (<i>C. perniciosa</i> , <i>P. palmivora</i> y <i>P. capsici</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. divaricatum</i>	Choco-Colombia	Hojas y Tallos	Metileugenol (F), eugenol (F), γ -elemeno (SH), α -copaeno (SH), β -Cubebeno (SH), t-Cariofileno (SH), β -Selineno (SH), Apiol (F)	Fitotóxico frente a <i>L. perenne</i>	(Jaramillo-Colorado et al., 2019)
<i>P. dilatatum</i>	Choco-Colombia	Hojas y tallos	α -Pinenol (MH), β -Pinenol (MH), Apiol (F), trans cariofileno (SH), Linalool (MO), α -copaeno (SH), β -Cubebeno (SH), t-Cariofileno (SH), γ -Elemeno (SH), β -Selineno (SH), α -Muurolenol (SH), γ -Cadineno (SH), Espathulenol (SO)	Antialimentario, fitotóxico frente a <i>L. perenne</i>	(Jaramillo-Colorado et al., 2019)
<i>P. a ff hispidum</i>	Choco-Colombia	Hojas y tallos	Limoneno (MH), α -Pinenol (MH), β -Pinenol (MH), p-cimeno (MH); δ -3-careno (MH), Linalool (MO), α -copaeno (SH), trans cariofileno (SH), elemol (SO), γ -Elemeno (SH), γ -Gurjuneno (SH), β -Selineno (SH), α -Muurolenol (SH), γ -Cadineno (SH), Nerolidol (SH), Espathulenol (SO)	Redujeron el crecimiento de las raíces de <i>L. sativa</i>	(Jaramillo-Colorado et al., 2019)
<i>P. sanctifelicis</i>	Choco-Colombia	Hojas y tallos	δ -3-careno (MH), limoneno (MH), p-cimeno (F), β pineno (MH), nerolidol (SH), α -Pinenol (MH), Linalool (MO), t-Cariofileno (SH)	Efecto antialimentario y fitotóxica	(Jaramillo-Colorado et al., 2019)
<i>P. gaudichaudianum</i>	Brasil	Hojas	α -humuleno (SH); biciclogermacreno (SH); nerolidol (SH); viridiflorol (SH); aromadendreno (SH); β -selineno (SH)	Citotóxico (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>); larvicida (<i>A. aegypti</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. guineense</i>	Africa	Frutas	β -cariofileno (SH), germacreno (SH), asaricina (F), α -pineno (MH), β -pineno (MH), germacreno (SH), 1,8-cineol (MO), Linalol (MO),	Potencial herbicida, hipotérmicos, sedantes, relajantes musculares, antipsicóticos y anticonvulsivos	(Oyemitan, 2017)

Especies	Origen	Parte de la planta	Principales metabolitos secundarios	Propiedades biológicas	Referencia
<i>P. hispidum</i>	Bahia-Brasil	Partes aéreas	δ -3-careno (MH); limoneno (MH); α -copaeno (SH); β -cariofileno (SH); α -humuleno (SH); β -selineno (SH); óxido de cariofileno (SO)	Citotóxico; antifúngico, antioxidante. Anticolinesterasa	(Takeara et al., 2017)
<i>P. hispidinervum</i>	Porto alegre-Brasil	Hojas	Safrol (F); α -terpinoleno (MH)	Antifúngico (<i>B. sorokiniana</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>C. gloeosporioides</i>); insecticida (<i>S. frugiperda</i>); amebicida (<i>A. polyphaga</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. hostmanianum</i>	Brasil	Hojas	Asaricina (F); miristicina (F)	Larvicida (<i>A. aegypti</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. humaytanum</i>	Brasil	Hojas	β -selineno (SH); óxido de cariofileno (SO)	Larvicida (<i>A. aegypti</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. malacophyllum</i>	Brasil	Hojas	α -pineno (MH); canfeno (MH); alcanfor (MO), nerolidol (SH)	Antimicrobiano; antifúngico	(Takeara et al., 2017)
<i>P. marginatum</i>	Paraiba-Brasil	Hojas y Tallos	Isoelemicina (F); Apiol (F); δ -guaieno (SH), Safrol (F), β -carifileno (SH), Elemicina (F), α -terpineno (MH), α -terpinoleno (MH), miristicina (F), α -pineno (MH), α -copaeno (SH), γ -elemeno (SH), α -humuleno (SH)	Antifúngico (<i>C. perniciosa</i> , <i>P. palmivora</i> y <i>P. capsici</i>); larvicida (<i>A. aegypti</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. nigrum</i>	Mayurbhanj-India	Frutos secos	Limoneno (MH); cariofileno (SH)	Antioxidante	(Nahak & Sahu, 2011)
<i>P. nigrum</i>	Paraiba-Brasil	Semilla	Limoneno (MH); óxido de cariofileno (SO), β -cariofileno (SH)	Larvicida (<i>A. aegypti</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. nigrum</i>	Tokio-Japón	Semillas	β -Tujeno (MH), Terpinen-4-ol (MO), δ -Elemeno (SH), α -copaeno (SH), β -cariofileno (SH), Humuleno (SH), β -Selineno (SH), δ -Cadineno (SH), Óxido de cariofileno (SO)	Antioxidante, antihiperuricemiantes y herbicida	(Andriana et al., 2019)

Especies	Origen	Parte de la planta	Principales metabolitos secundarios	Propiedades biológicas	Referencia
<i>P. nigrum</i>	Chittagong-Bangladesh	Hojas y Ramas	α -Felandreno (MH), canfeno (MH), sabineno (MH), α -pineno (MH), β -pineno (MH), 3-careno (MH), O-cimeno (MH), limoneno (MH), β -felandreno (MH), terpinoleno (MH), linalol (MO), α -bisabolol (SO), espathulenol (SO), carifileno (SH)	Insecticida	(Morshed et al., 2017)
<i>P. cubeba</i>	Bogor-Indonesia	Semillas	Terpinen-4-ol (MO), δ -Elemeno (SH), α -cubebeno (SH), α -copaeno (SH), Germacreno D (SH), γ -Elemeno (SH), δ -Cadineno (SH), α -Elemol (SO), Espathulenol (SO), Cubenol (SO), β -Eudesmol (SO)	Reducen el crecimiento de las raíces de <i>L. sativa</i>	(Jaramillo-Colorado et al., 2019)
<i>P. permucronatum</i>	Brasil	Hojas	Dillapiol (F); miristicina (F)	Larvicida (<i>A. aegypti</i>)	(Takeara et al., 2017)
<i>P. vicosanum</i>	Dourados-Brasil	Hojas	α -Alaskeno (SH); γ -elemeno (SH); limoneno (MH)	Antiinflamatorio	(Takeara et al., 2017)
<i>P. vicosanum</i>	Minas Gerais - Brasil	Hojas y ramas	α -pineno (MH), canfeno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), felandreno (MH), δ -3-careno (MH), α -terpineno (MH), p-cimeno (MH), 1,8-cineol (MO), limoneno (MH), (z)- β -ocimeno (MH), γ -terpineno (MH), fenchone (MO), terpinoleno (MH), borneol (MO), terpinen-4-ol (MO), α -copaeno (SH), β -carifileno (SH), α -guaiene (SH), α -humuleno (SH)	Antioxidante; insecticida	(Mesquita et al., 2006)

Especies	Origen	Parte de la planta	Principales metabolitos secundarios	Propiedades biológicas	Referencia
<i>P. hostmanianum</i>	Rondiña-Brasil	Hojas y Ramas	α -pineno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), piperitono (MO), α -copaeno (SH), β -elemeno (SH), β -copaeno (SH), aromadendreno (SH), α -humuleno (SH), asaricin (F), miristicin (F), elemicin (F), dillapiol (F).	-----	(de Morais et al., 2007)
<i>P. angustifolium</i>	Mato Grosso de sur-Brasil	Hojas y Ramas	α -pineno (MH), canfeno (MH), p-cimeno (MH), limoneno (MH), cuminaldehido (MO), δ -elemeno (SH), α -copaeno (SH), β -elemeno (SH), γ -cadineno (SH), espathuleno (SO), viridiflorero (SH), torreyol (SO)	Leishmanicida	(Bosquioli et al., 2015)
<i>P. nigrum</i>	Chittagong-Bangladesh	Hojas y Ramas	α -Felandreno (MH), canfeno (MH), sabineno (MH), α -pineno (MH), β -pineno (MH), 3-careno (MH), O-cimeno (MH), limoneno (MH), β -felandreno (MH), terpinoleno (MH), linalol (MO), α -bisabolol (SO), espathuleno (SO), carifileno (SH)	Insecticida	(Morshed et al., 2017)
<i>P. hispidinervum</i>	Puerto Alegre - Brasil	Hojas y Ramas	α -pineno (MH), β -pineno (MH), α -felandreno (MH), β -felandreno (MH), δ -3-careno (MH), α -terpineno (MH), (z)- β -ocimeno (MH), γ -terpineno (MH), terpinoleno (MH), safrol (F), α -copaeno (SH), β -elemeno (SH), metil eugenol (F), (E)-carifileno (SH), α -humuleno (SH), germacreno D (SH), biciclogermacreno (SH), γ -cadineno (SH), δ -cadideno (SH), elemicina (F), óxido de cariofileno (SO), guaiol (SO)	Amebicida	(Sauter et al., 2012)

Especies	Origen	Parte de la planta	Principales metabolitos secundarios	Propiedades biológicas	Referencia
<i>P. obliquum</i>	Rondiña-Brasil	Hojas y ramas	α -pineno (MH), β -pineno (MH), canfeno (MH), mirceno (MH), limoneno (MH), terpinoleno (MH), óxido de α -pineno (MO), linalol (MO), isoborneol (MO), terpinen-4-ol (MO), acetato de bornil (MO), 1,8-cineol (MO), α -cubebeno (SH), α -copaeno (SH), β -elemeno (SH), α -gurjuneno (SH), (E)-carifileno (SH), α -humuleno (SH), α -cadinol (SO), carotol (SO), elemol (SO), metileugenol (F)	Antiinflamatorio, enzimático, tripanocida y antiplaquetario.	(Rojas E Silva Aizzo, 2013)
<i>P. cernuum</i>	Cubatao-Brasil	Hojas y ramas	α -pineno (MH), canfeno (MH), limoneno (MH), carvacrol (MO), tymol (MO), mircene (MH), p-cimeno (MH), α -terpineol (MO), linalol (MO)	Antitumoral y citotóxico	(Girola et al., 2015)
<i>P. guadichaudianum</i>	Rondiña-Brasil	Hojas y Ramas	α -pineno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), aromadendreno (SH), γ -muuroleno (SH), β -sileneno (SH), α -selineno (SH), viridiflorol (SH), selin-11-en-4- α -ol (SO),	Larvicida	(de Morais et al., 2007)
<i>P. humaytanum</i>	Rondiña-Brasil	Hojas y Ramas	α -pineno (MH), canfeno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), β -bourboneno (SH), β -elemeno (SH), (S), E-cariofileno (SH), γ -muuroleno (SH), Ar-curcumeno (SH)	Larvicida	(de Morais et al., 2007)
<i>P. permucronatum</i>	Rondiña-Brasil		canfeno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), asaricin (F), miristicin (F), elemicin (F), dillapiol (F).	Larvicida	(de Morais et al., 2007)

Fuente: Elaboracion Propia

Leyenda: MH= monoterpenos hidrocarbonados; MO= monoterpenos oxigenados; SH: sesquiterpenos hidrocarbonados; SO: sesquiterpenos oxigenados; F: fenilpropanoides.

1.2.4. Aceites esenciales y su manejo en el control de malas hierbas

Las malas hierbas (planta arvense) son plantas que pueden crecer en diferentes hábitat, especialmente en campos cultivados, la presencia de malezas en los campos de cultivo generalmente no es deseada por los agricultores por varias razones; en primer lugar reduce la producción de cultivos al competir con las plantas deseadas por los recursos como nutrientes del suelo, agua y espacio para el crecimiento y, lo más importante, se consideran en la mayoría de los casos como plantas hospedadores de plagas (Amri et al., 2013).

La creciente resistencia a los herbicidas de las malas hierbas ha resultado en un gran aumento en el uso de herbicidas. En la actualidad hay un aumento sustancial de residuos de plaguicidas en los alimentos. Esto viene generando el interés de buscar nuevos pesticidas como alternativa. Los terpenos representan el mayor y el más diverso grupo de metabolitos secundarios y son los constituyentes más abundantes en los aceites esenciales (Amri et al., 2013).

El uso de terpenoides está implicado en interacciones alelopáticas como fuentes de nuevos modelos agroquímicos que podrían dar protección a cultivos y al manejo de malezas. Los Monoterpenos y sesquiterpenos de los aceites esenciales presentan un potencial efecto fitotóxico, al igual que sus compuestos puros (Amri et al., 2013).

Los aceites esenciales extraídos de diferentes órganos de especies del género *Piper* están constituidos principalmente por hidrocarburos monoterpénicos (ejemplo, α -pineno, mirceno, limoneno, α -terpineno, *p*-cimeno, β -ocimeno), monoterpenos oxigenados (ejemplo, 1,8-cineol, linalol, terpineno-4-ol, borneol, alcanfor), hidrocarburos sesquiterpénicos (ejemplo, β -cariofileno, α -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, α -cubebeno), sesquiterpenos oxigenados (ejemplo, Espatulenol, (E)-nerolidol, óxido de cariofileno, α -cadinol, epi- α -bisabolol) y fenilpropanoides (ejemplo, safrol, dilapiole, miristicina, elemicina, (Z)-asarona, eugenol) como los más representativos del género, además presentan importantes actividades biológicas (da Silva et al., 2017; Nascimento et al., 2012; Parmar et al., 1997; Paz et al., 2017). (Ver tabla 2).

1.2.5. Compuestos con efectos fitotóxicos

1.2.5.1. Compuestos α y β -pineno

Los compuestos α y β -pineno (figura 1) cumplen una función muy importante en las interacciones alelopáticas entre las plantas. Estos compuestos se encuentran en muchas especies de *Piper* (tabla 2 y 3) y en otras especies como árboles coníferos de *Pinos sp*, *Cupressus sp*, *Pistacia sp* (Amri et al., 2013).

El α pineno inhibe la germinación de las semillas, el crecimiento de las raíces primarias en el maíz, el crecimiento de las plántulas de *Cassia occidentalis*, *Amaranthus viridis*, *Triticum aestivum* y la exposición de las raíces de *Cassia occidentalis*. El α -pineno y su isómero β -pineno, actúan contra la germinación y elongación radical de *Raphanus sativus* y *Lepidium sativum*, revelando importantes propiedades fitotóxicas (Amri et al., 2013).

Es reconocido que el α -pineno tiene un papel ecológico importante en las interacciones alelopáticas entre plantas, por lo que puede ser considerado como candidato potencial para el desarrollo de nuevos herbicidas. Se ha demostrado que el α -pineno inhibe la germinación de las semillas, el crecimiento de las raíces primarias en el maíz. Además, compuestos como α -pineno, limoneno, 1,8-cineol y alcanfor afectan la actividad respiratoria de las mitocondrias de los ejes de hipocótilo de maíz y soja, demostrando que el α -pineno es el más activo entre todos los monoterpenos probados (Abraham et al., 2000, 2003; Amri et al., 2013). También, se ha demostrado que el α pineno actúa sobre el metabolismo energético de las mitocondrias aisladas del maíz, mediante el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, inhibiendo la transferencia de electrones y la producción de adenosín trifosfato (ATP) mitocondrial (Abraham et al., 2003).

Se ha probado la actividad herbicida de los 10 aceites esenciales de *Ruta graveolens*; donde el α -pineno inhibe significativamente la germinación y el alargamiento de las raíces del rábano después de 120 horas de siembra, indicando que el α -pineno era el inhibidor más potente de la germinación a la luz y oscuridad (De Feo et al., 2002). Los isómeros α -pineno y β -pineno mostraron efectos fitotóxicos, inhibiendo la germinación y

elongación radical de *Raphanus sativus* y *Lepidium sativum*. También se encontró que los pinenos reducen el contenido de clorofila en los coleoptiles de *Oryza sativa*, respiración celular, actividad enzimática de proteasas, α y β -amilasas y raíces y longitud de coleoptilos (Amri et al., 2013; De Martino et al., 2010).

1.2.5.2. **Compuesto 1,8-cineol**

Se cree que los monoterpenos cineoles tienen actividad fitotóxica desde la década de 1960. El 1,8-cineol (figura 2) ha sido identificado como uno de los aleloquímicos más potentes liberados por muchas especies como *Eucalyptus sp.* Los estudios de laboratorio respaldan los datos de campo al mostrar que el 1,8-cineol y su análogo natural, el 1,4-cineol, suprimen el crecimiento de varias malezas (Amri et al., 2013; Romagni et al., 2000).

Se ha demostrado que el 1,8-cineol inhibe la germinación, la velocidad de germinación, el crecimiento de las plántulas, el contenido de clorofila y la actividad respiratoria de *Ageratum conyzoides* (Singh et al., 2002). Si bien muchos cineoles (por ejemplo, 1,4-cineol y 1,8-cineol) son fitotóxicos, pero su mecanismo de acción no ha sido dilucidado claramente (Dayan & Duke, 2014). El 1,8-cineol muestra datos donde disminuye severamente todas las etapas de la mitosis en comparación con los controles (Romagni et al., 2000). También se ha probado la actividad herbicida de 10 compuestos volátiles de los aceites esenciales *Ruta graveolens*; demostraron que el 1,8-cineol inhibe significativamente la germinación y el alargamiento radical del rábano en condiciones de luz y oscuridad (De Feo et al., 2002).

Además, el 1,8-cineol inhibe la germinación y elongación radical de *Raphanus sativus* y *Lepidium sativum*, demostrando una importante actividad fitotóxica (Amri et al., 2013; De Martino et al., 2010).

1.2.5.3. **Compuesto Carvacrol**

El carvacrol (figura 2) presenta efectos fitotóxicos inhibiendo la germinación y el crecimiento de las plantas de *Amaranthus retroflexus* y *Chenopodium album* y sus efectos fueron más altos que los del herbicida comercial 2,4-D-isooctil éster (Kordali et al., 2008). Inhibe la germinación y elongación radical de *Raphanus sativus* y *Lepidium sativum* y presenta efectos fitotóxicos sobre la germinación y crecimiento de plantas de *Sinapis*

arvensis, *Amaranthus retroflexus*, *Centaurea salsotitialis*, *Raphanus raphanistrum*, *Rumex nepalensis* y *Sonchus oleraceus*, solo la especie *Alceapallida* mostró resistencias frente a carvacrol (Amri et al., 2013; Azirak & Karaman, 2008).

En la tabla 3, se observa metabolitos secundarios aislados de especies vegetales del género *Piper* se puede observar que hay muchos compuestos que presentan actividad fitotóxica (Amri et al., 2013).

Tabla 3. Principales Metabolitos secundarios que presentan actividad fitotóxica en las especies de Piper.

Especies	Metabolitos secundarios	Referencia
<i>P. a ff hispidum</i>	Limoneno (MH), α -Pineno (MH), β -Pineno (MH), <i>p</i> -cimeno (MH); Linalol (MO), elemol (SO), γ -Cadineno (SH), Espatuleno (SO)	(Amri et al., 2013)
<i>P. aduncum</i>	β -pineno (MH); α -farneseno (SH); 1,8-cineol (MO)	(Amri et al., 2013)
<i>P. aequale</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. aleyreanum</i>	Óxido de cariofileno (SO); Espatuleno (SO); β -pineno (MH); canfeno (MH); (SH); β -cariofileno (SH); germacreno D (SH)	(Amri et al., 2013)
<i>P. amplum</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. angustifolium</i>	α -pineno (MH), canfeno (MH), <i>p</i> -cimeno (MH), limoneno (MH), δ -elemeno (SH), α -copaeno (SH), β -elemeno (SH), γ -cadineno (SH), espatuleno (SO)	(Amri et al., 2013; De Martino et al., 2010)
<i>P. anonifolium</i>	α -pineno (MH)	(Amri et al., 2013)
<i>P. arboretum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. augustum</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. callosum</i>	β -pineno (MH) y 1,8 cineol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. caninum</i>	β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. carniconectivum</i>	β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. carpunya</i>	1,8 cineol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. cernuum</i>	Canfeno (MH)	(Amri et al., 2013)
<i>P. cernuum</i>	α -pineno (MH), canfeno (MH), limoneno (MH), carvacrol (MO), timol (MO), mirceno (MH), <i>p</i> -cimeno (MH), linalol (MO)	(Amri et al., 2013)
<i>P. cernuum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH) y carvacrol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. corcovadensis</i>	α -pineno (MH)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. corrugatum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. crassinervium</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. cubeba</i>	Germacreno D (SH), δ -Cadineno (SH), Espatuleno (SO), β -Eudesmol (SO), β -pineno (MH), canfeno (MH), α -pineno	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. demeraranum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. dilatatum</i>	α -Pineno (MH), β -Pineno (MH), Linalol (MO), γ -Cadineno (SH), Espatuleno (SO)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. diospyrifolium</i>	γ -muuroleno (SH); limoneno (MH)	(Amri et al., 2013)
<i>P. divaricatum</i>	β -pineno (MH) y 1,8 cineol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. duckei</i>	1,8 cineol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. durilignum</i>	β -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)

Especies	Metabolitos secundarios	Referencia
<i>P. fimbriulatum</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. friedrichsthalii</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. glabratum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. glabrescens</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. grande</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. guadichaudianum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), γ -muuroleno (SH), β -sileneno (SH), α -selineno (SH)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. guineense</i>	β -cariofileno (SH), α -pineno (MH), β -pineno (MH), 1,8-cineol (MO), Linalol (MO)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. heterophyllum</i>	α -pineno (MH), 1,8 cineol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. hispidinervum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH), α -felandreno (MH), β -felandreno (MH), (z)- β -ocimeno (MH), (E)-carifileno (SH), α -humuleno (SH), germacreno D, γ -cadineno (SH), δ -cadideno (SH), elemicina (F), óxido de cariofileno (SO)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. hispidum</i>	limoneno (MH); β -cariofileno (SH); α -humuleno (SH); óxido de cariofileno (SO), α -pineno, β -pineno	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. hostmanianum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), α -humuleno (SH)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. humaytanum</i>	α -pineno (MH), canfeno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), E-cariofileno (SH), γ -muuroleno, óxido de cariofileno (SO)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. jacquemontianum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. lanceifolium</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. longun</i>	1,8 cineol (MO)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. lucaeum</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)

<i>P. malacophyllum</i>	α -pineno (MH); canfeno (MH)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. marginatum</i>	β -carifileno (SH), α -terpineno (MH), α -pineno (MH), α -humuleno (SH)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. mollicomun</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. mosenii</i>	β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. multiplinervium</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. nigrum</i>	α -Felandreno (MH), canfeno (MH), α -pineno (MH), β -pineno (MH), (MH), limoneno (MH), β -felandreno (MH), linalol (MO), espathulenol (SO), carifileno (SH), β -cariofileno (SH), Humuleno (SH), δ -Cadineno (SH), Óxido de cariofileno (SO), 1,8 cineol, carvacrol	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. obliquum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH), canfeno (MH), mirceno (MH), limoneno (MH), linalol (MO), 1,8-cineol (MO), (E)-carifileno (SH), α -humuleno (SH), elemol (SO),	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. permucronatum</i>	canfeno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH),	

Especies	Metabolitos secundarios	Referencia
<i>P. sanctifelicis</i>	Limoneno (MH), <i>p</i> -cimeno (F), β -Pineno (MH), α -Pineno (MH), Linalol (MO)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)
<i>P. solmsianum</i>	α -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. tectoniaefolium</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. tuberculatum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. umbellatum</i>	α -pineno (MH), β -pineno (MH)	(Salehi et al., 2019)
<i>P. vicosanum</i>	α -pineno (MH), canfeno (MH), β -pineno (MH), mirceno (MH), felandreno (MH), α -terpineno (MH), <i>p</i> -cimeno (MH), 1,8-cineol (MO), limoneno (MH), (z)- β -ocimeno (MH), borneol (MO), terpinen-4-ol (MO), α -copaeno (SH), α -humuleno (SH)	(Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019)

Fuente: Elaboración Propia

1.2.6. **Herbicidas**

Si bien casi el 70% de todos los ingredientes de plaguicidas activos recientemente registrados tienen su origen en la investigación de productos naturales, solo el 8% de los herbicidas convencionales se derivan de compuestos naturales aprobados por la Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU son bioherbicidas (Cantrell et al., 2012). Esto es notable, porque las malezas tienen el mayor impacto negativo en la productividad de los cultivos entre las plagas y la falta de control de malezas es la preocupación más urgente expresada por los agricultores (Dayan & Duke, 2014).

Los herbicidas son sustancias químicas fitotóxicas que se utilizan para destruir diversas malezas o inhibir su crecimiento (Cobb & Reade, 2010). Tienen grados variables de especificidad. De todos los grupos de plaguicidas (incluidos insecticidas, fungicidas y raticidas), los herbicidas son el grupo líder en términos de toneladas producidas, el uso mundial representa alrededor del 48% del uso total de pesticidas (Gupta, 2011).

El uso extenso y generalizado de herbicidas en la agricultura continúa debido a su alto nivel de efectividad y bajo costo en relación con otros métodos de control de malezas. Los herbicidas se utilizan en ecosistemas agrícolas, acuáticos, forestales y silvestres para reducir la densidad de vegetación no deseada (malezas) y permitir el crecimiento de especies deseables. Con el tiempo, el uso de herbicidas en los agroecosistemas reduce la densidad de malezas y también puede seleccionar especies que se adapten a los productos químicos particulares, reduciendo así la diversidad de especies de malezas. En los ecosistemas de zonas silvestres, a veces se utilizan herbicidas para reducir la densidad de especies de malezas exóticas o invasoras y, por lo tanto, aumentar indirectamente la diversidad de especies nativas o deseables (Holt, 2013).

Cuando los herbicidas ingresan inadvertidamente al medio ambiente como contaminante, pueden ocurrir impactos perjudiciales en plantas no objetivo y otros organismos. Sin embargo, la amenaza para la biodiversidad vegetal causada por la pérdida de hábitat y la propagación de especies exóticas es mucho mayor que la causada por todas las formas de contaminación ambiental, incluidos los herbicidas (Holt, 2013).

El uso de herbicidas también conlleva riesgos, que incluyen daños a cultivos y plantas no objetivo. Los residuos de herbicidas en el suelo, agua, toxicidad para organismos no objetivo genera preocupaciones por la salud y seguridad de los humanos (Holt, 2013).

Los herbicidas tienen diferentes mecanismos de acción para poder matar las malezas en los cultivos agrícolas, se presentan los mecanismos de acción más importantes de los herbicidas.

1.2.6.1. **Mecanismos de acción de los herbicidas**

En su mayoría los grupos de herbicidas afectan, bien la fotosíntesis o la división celular y el crecimiento, sin embargo, hay algunos herbicidas que pueden afectar en varios puntos. Tenemos así, el bromoxynil nitrilo que inhibe la fotosíntesis y desacopla la fosforilación oxidativa. Generalmente los herbicidas que pertenecen a un mismo grupo químico tienden a tener el mismo sitio de acción, pero no siempre es así. Por ejemplo, la anilida propanil inhibe la fotosíntesis, mientras que otro miembro de este grupo, diflufenican, inhibe la biosíntesis de carotenoides (Labrada et al., 1996).

1.2.6.1.1. **Herbicidas que interfieren con la fotosíntesis**

Muchos de los herbicidas disponibles comercialmente interfieren con la fotosíntesis, este proceso está involucrado en la conversión de energía luminosa en energía química, para así producir la liberación de oxígeno y la transformación del CO₂ en azúcares. En este grupo tenemos:

Herbicidas del Fotosistema 1 (FS1): Estos son los compuestos bipyridílicos (Holt, 2013), estos productos desvían el flujo de electrones en el extremo terminal del Fotosistema 1. La acción de estos herbicidas es, dependiente de luz para promover el flujo de electrones y del oxígeno para producir superóxido fitotóxico, peróxido de hidrógeno, y el altamente dañino hidroxil (radical libre) (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

“Estos radicales fitotóxicos interactúan rápidamente con los lípidos de las membranas y con los aminoácidos de las proteínas y ácidos nucleicos

enzimáticos, produciendo rápida filtración de las membranas y destrucción del tejido foliar, lo que da una apariencia de mojado por agua, que es seguida de necrosis y desecación” (Labrada et al., 1996).

Inhibidores del Fotosistema 2 (FS2): Estos compuestos bloquean el transporte de electrones mediante la interacción con un polipéptido en la membrana de los cloroplastos. La especificidad de este sitio de acción requiere del elemento estructural $-CO-N<$ o $-N=C-N<$ para la acción inhibitoria, así tenemos el s-triazina, fenilurea y uracilo; metribuzina, etc (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

“Esta forma de acción es altamente dañina de oxígeno puede interactuar con los lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y otras moléculas celulares para causar la desorganización celular y, como consecuencia, la muerte de la planta. Esto se refleja en la aparición de síntomas fitotóxicos, como la clorosis y la necrosis” (Labrada et al., 1996).

Inhibidores de la biosíntesis de carotenoides: El norflurazon Inhiben las "reacciones de desaturación" en la biosíntesis de carotenoides, mientras que el amitrol bloquea otra etapa no identificada de este proceso. Tenemos, además, los compuestos clomazona, fluridona y isoxaflutol (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

Inhibición de la síntesis de lípidos: Los ácidos grasos son necesarios en la formación de los componentes lípidos de las membranas y ceras cuticulares, respectivamente. Los herbicidas Propionato de ariloxifenoxi y las oximas inhiben la biosíntesis de los ácidos grasos, el acetil Coenzima A carboxilasa (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

Inhibición de la división celular: Herbicidas, como dinitroanilinas y carbamatos, inhiben la división celular mediante su interacción con los microtúbulos. La formación de microtúbulos del huso mitótico es necesaria para la separación de nuevos cromosomas. Las puntas de las raíces expuestas a dinitroanilinas y carbamatos se abultan, la mitosis se detiene y un reducido número de microtúbulos usualmente se observan. Además, tenemos compuestos como bensulida, napropamida y sidurón que también inhiben la división celular (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

Inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos: Los aminoácidos son componentes esenciales de las proteínas. El bloqueo de la síntesis de aminoácidos afecta la biosíntesis enzimática y el metabolismo vegetal. Los aminoácidos esenciales, se encuentran solamente en plantas y microorganismos, por lo que los herbicidas que inhiben su biosíntesis de estos tienden a ser de baja toxicidad para los mamíferos. Sin embargo, el glufosinato, herbicidas que inhibe la síntesis de glutamina, un aminoácido importante en los animales, es también considerado de baja toxicidad para (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

Inhibición de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos: El glifosato inhibe la vía del shikimato y es el único herbicida comercializado que afecta la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos. Se trata de uno de los herbicidas más móviles por el floema y es especialmente efectivo contra las malezas perennes, al acumularse en el tejido meristemático de los tallos, raíces y órganos de almacenamiento. Como resultado, la división celular y el crecimiento se detienen y una semana o más después, el follaje se toma clorótico (Holt, 2013; Labrada et al., 1996).

A continuación, se describirá uno de los herbicidas de mayor uso en el mundo:

El glifosato, (N- fosfometil glicina) es un herbicida no selectivo de amplio espectro que inhibe la biosíntesis de aminoácidos aromáticos en las plantas, bloqueando un paso clave en la vía del shikimato. Su uso en el control de malezas para cultivos se inició en la década de 1970 con Roundup®. Sus usos agrícolas aumentaron considerablemente después del desarrollo de variedades modificadas genéticamente, para especies resistentes al glifosato. Desde que se introdujo el glifosato en 1974, todas las evaluaciones regulatorias han establecido que el glifosato tiene un bajo potencial de peligro para los mamíferos, sin embargo, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) concluyó en marzo de 2015 que probablemente sea cancerígeno (Tarazona et al., 2017).

En consecuencia, su manejo y aplicación en los diferentes cultivos, tanto lícitos como ilícitos, tiene efecto ambiental nocivo que podría poner en riesgo un ecosistema entero. Estudios recientes de la agencia de protección ambiental han reclasificado al glifosato como altamente contaminante para plantas y animales sensibles a este compuesto. En la salud se ha encontrado que es nocivo para los humanos, ya que puede ser utilizado como veneno. Investigaciones realizadas por

la agencia internacional de investigación sobre el cáncer expresaron que algunas comunidades cercanas a los cultivos erradicados con glifosato han presentado serios problemas de salud: irritaciones oculares graves, enfermedades estomacales cancerígenas o leucemia. En particular, el uso de glifosato tiene que ser controlado y moderado con estándares que supervisen el daño ambiental y la salud tanto de animales como de comunidades humanas (Quintero, 2020).

Los efectos crónicos vinculados al glifosato y sus productos derivados pueden ser reproductivos, cáncer, neurológicos, y efectos agudos vinculados al uso directo del producto por los agricultores o la exposición de habitantes. A pesar del amplio uso de productos que contienen glifosato, hay datos limitados sobre los residuos en alimentos y forrajes, incluidos los productos de origen animal tales como las vísceras, consumidos por personas y animales (Castro & Evelyn, 2017).

Los cultivos transgénicos han aumentado considerablemente el uso de glifosato, especialmente en América, donde son principalmente cultivados. Teniendo en cuenta las nuevas evidencias sobre la toxicidad del glifosato, esto es muy preocupante. El aumento de las malezas resistentes al glifosato está asociado a los cultivos transgénicos

En la actualidad muchos de las malezas presentan resistencia a los herbicidas, actualmente hay 522 casos únicos (especie x sitio de acción) de malezas resistentes a herbicidas a nivel mundial, con 263 especies (152 dicotiledóneas y 111 monocotiledóneas). Las malas hierbas han desarrollado resistencia a 23 de los 26 sitios de acción de herbicidas conocidos y, a 164 herbicidas diferentes. Se han reportado malezas resistentes a herbicidas en 94 cultivos en 71 países (*Current Status of the International Herbicide-Resistant Weed Database*, s. f.).

La resistencia a los herbicidas es un resultado normal y predecible de selección. Existen mutaciones raras que confieren resistencia a herbicidas a individuos dentro de una población de malezas antes del tratamiento con herbicidas. Se enriquecen mediante el uso repetido de herbicidas hasta el punto en que la población de malezas ya no está controlada por el herbicida a la tasa recomendada en condiciones agrícolas (Heap, 2014).

Hay cinco mecanismos principales de resistencia a los herbicidas:

1. La resistencia en el sitio activo es el resultado de mutaciones que alteran el sitio de unión del herbicida (a menudo dentro de una enzima), previniendo o reduciendo la capacidad del herbicida para unirse al sitio activo. La resistencia al inhibidor ALS (acetolactato sintasa), al inhibidor de la ACAC (acetil CoA carboxilasa), dinitroanilina y triazina son a menudo herbicidas, resistencia del sitio acción.

2. El metabolismo mejorado es el aumento de la capacidad de una planta para metabolizar (degradar) un herbicida antes de que mate a la planta.

3. La disminución de la absorción y / o la translocación puede resultar en una restricción suficiente del movimiento del herbicida al sitio de acción, lo que permite que la planta sobreviva.

4. El secuestro de un herbicida en las paredes celulares o en las vacuolas reduce la concentración de herbicida que llega al sitio de acción y puede resultar en resistencia.

5. La amplificación y/o sobreexpresión de genes aumenta la producción del enzima blanco, lo que requiere una mayor concentración de herbicida para llegar al sitio de acción para inhibir la enzima y causar la muerte (Heap, 2014).

1.2.7. Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS)

La cromatografía engloba una serie de técnicas que tienen en común la separación de los componentes de una mezcla mediante una serie de operaciones de equilibrio que resultan en la separación de las entidades como resultado de su reparto (sorción diferencial) entre dos fases diferentes, una estacionaria con una gran superficie y la otra una fase móvil en contacto con la primera. La cromatografía no se limita a separaciones analíticas. Puede utilizarse en la preparación de sustancias puras, el estudio de la cinética de reacciones, las investigaciones estructurales a escala molecular y la determinación de constantes fisicoquímicas, incluidas las

constantes de estabilidad de complejos, entalpía, entropía y energía libre (Engewald & Dettmer-Wilde, 2014).

La Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC/MS, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica dedicada a la separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles. La separación de dichas sustancias depende de la diferente distribución de las sustancias estudiadas entre las fases móvil y estacionaria que conforman el sistema. Una vez separadas las sustancias son fragmentadas y analizadas en función de su patrón de fragmentación, el cual puede ser comparado con información contenida en una base de datos de espectros de masas para su identificación preliminar. La identificación definitiva, así como la cuantificación de cada sustancia debe hacerse mediante el empleo de sustancia de referencia (Lorenzo & Pico, 2017; Nagana Gowda et al., 2017).

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas es ampliamente utilizada en metabolómica debido a numerosos factores, incluyendo su fiabilidad y el costo relativamente bajo del instrumento y el mantenimiento. Cubre la identificación / cuantificación de una gran variedad de metabolitos volátiles y no volátiles (después de la derivatización) (Lorenzo & Pico, 2017; Nagana Gowda et al., 2017).

La mayoría de los compuestos volátiles, de bajo peso molecular, a menudo se detectan en el rango de masa de 30-400 masa/carga (m/z). Sin embargo, cuando se detectan metabolitos específicos de alto peso molecular, el escaneo de masas podría realizarse en un amplio espectro de 30 a 600 m/z (Misra et al., 2015). Como resultado, Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas se puede aplicar al análisis de una amplia gama de clases de metabolitos, incluidos lípidos, péptidos, alcoholes, ácidos orgánicos., aminoácidos, cetonas, aldehídos, ésteres, sulfuros, azúcares, fosfatos de azúcar, alcoholes de azúcar, alcaloides, aminas y amidas. Debido al uso de una fase móvil gaseosa y la naturaleza de alta energía de su fuente de ionización (típicamente 70 eV) (Nagana Gowda et al., 2017).

Una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas. En este proceso, el espectrómetro de masas, además de proporcionar los espectros, actúa como detector cromatográfico al registrar la corriente iónica total generada en la fuente iónica, cuya representación gráfica constituye el cromatograma o "TIC" (total ion current) (Gutiérrez Bouzán & Droquet, 2002).

La retención de analitos es influenciada básicamente por el tiempo de su permanencia en la fase estacionaria. A mayores valores de constante de distribución, más largos serán los tiempos de retención de analitos. Depende del tipo y dimensiones de la columna, la polaridad de la fase estacionaria y su grosor, temperatura de la columna y la velocidad de su calentamiento, el tipo del gas de arrastre y su velocidad, el modo de inyección y la presión de salida de la columna (ambiental Vs presión reducida), dependen, inclusive, de la cantidad (concentración) del analito que se eluye de la columna (Stashenko & Martínez, 2010).

1.2.8. **Ensayos de fitotoxicidad**

Lolium perenne L. (raigrás italiano), se encuentra entre las diez malezas más abundantes y problemáticas para la producción de trigo en el centro-sur de los Estados Unidos. Tiene una alta capacidad para desarrollar patrones complejos de resistencia a herbicidas (glifosato), lo que las convierte en una de las malezas más difíciles de controlar. Se informó que los índices competitivos del raigrás italiano, incluida la tasa de desarrollo de las hojas y la altura de las plantas, eran superiores a los del trigo (T. Bararpour et al., 2020).

Desde 1998, se ha documentado que las poblaciones de raigrás italiano son resistentes al glifosato, uno de los herbicidas más utilizados para aplicaciones quemadas (Powles et al., 1998).

Lolium perenne L. pertenece a la familia de las gramíneas. Originario del Centro y Sur de Europa, Noroeste de África y Suroeste de Asia. Es una

planta *perenne* de 10-80 cm, cespitosa, con los tallos lisos. Hojas con lígula membranosa de hasta 2 mm y aurículas, la vaina basal generalmente rojiza cuando joven. Inflorescencia en espiga con el raquis rígido (*Lolium perenne* L., 2020). Esta planta se encuentra entre las diez malas hierbas más abundantes y problemáticas para la producción de trigo en todo el mundo. Tiene una alta capacidad para desarrollar patrones complejos de resistencia a herbicidas, lo que lo convierte en una de las malezas más problemáticas para controlar (M. T. Bararpour et al., 2017; T. Bararpour et al., 2020; Fernández-Moreno et al., 2017).

***Lactuca sativa* F. var. Carrascoy** (o lechuga). Esta variedad de semilla es empleada habitualmente en los estudios de interacciones alelopáticas y estudios de fitotoxicidad (Pino et al., 2016). Es una planta con raíz pivotante y ramificada de unos 25 cm. El crecimiento se desarrolla en la roseta; las hojas se disponen alrededor de un tronco central, corto y cilíndrico que gradualmente se va alargando para producir las inflorescencias, formadas por capítulos de color amarillo (parecidos al diente de león) reunidos en corimbos. Las semillas están provistas de un vilano plumoso. Su cultivo se remonta a la antigüedad de 2.500 años, siendo conocida por griegos y romanos (Noumedem et al., 2017).

1.3. Definición de Términos Básicos

Aceites esenciales: son una mezcla compleja de metabolitos secundarios, tienen consistencia líquida, aromático y muchos son volátiles. Se obtienen del material vegetal de diferentes plantas a través de destilación al vapor, Hidrodestilación u otros métodos distintos a la destilación (Ríos, 2016; Takeara et al., 2017).

Hidrodestilación: es un método de extracción de aceites esenciales en el cual el material está sumergido en agua en ebullición, la característica principal de este proceso es el contacto directo del agua y el material del cual se extraerá el aceite esencial (Oreopoulou et al., 2019).

Herbicida: son químicos fitotóxicos (Gupta, 2011) utilizados en ecosistemas agrícolas y forestales para destruir diversas malezas o inhibir su crecimiento, promoviendo el crecimiento de especies deseables (Holt, 2013).

Metabolitos secundarios: son compuestos con estructuras químicas variadas y sofisticadas, producidos por bacterias, hongos o plantas los cuales no están directamente involucrados en el crecimiento, desarrollo o reproducción normal del organismo (Barrios-González, 2018).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de la hipótesis

Los metabolitos secundarios de los aceites esenciales de las especies vegetales de familia Piperáceae presentan actividad fitotóxica frente *Lolium perenne* L y *Lactuca sativa* F.

2.2. Variables y su operacionalización

a. Variable Independiente.

- Aceites esenciales de las especies vegetales de la familia Piperáceae.

b. Variable Dependiente.

- Actividad fitotóxica.
- Metabolitos secundarios de los aceites esenciales con actividad fitotóxica.

Tabla 4. Variables y operacionalización

Variable	Definición	Tipo de la naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categoría	Valores de la categoría	Medio de verificación
Independiente: Aceites esenciales de las especies vegetales de la familia Piperáceae.	Son líquidos aromáticos que se obtienen de diferentes partes de la planta sea de las flores, raíces, hojas, tallos, frutos, semillas, etc.	cuantitativa	% Rendimiento del aceite esencial	Razón	Masa y volumen del aceite esencial	mg, mL	Muestras obtenidas
Dependientes: Actividad fitotóxica	Ensayo que se realiza con la finalidad de buscar sustancias que puedan ser usados para destruir o reducir las malas hierbas.	cuantitativa	% de inhibición del crecimiento radicular y folicular	Razón	Ensayos	Dosis: 100 µg/cm ²	Gráficos de actividad de los ensayos
Metabolitos secundarios de los aceites esenciales con actividad fitotóxica	son compuestos químicos sintetizados por las plantas que pueden cumplir funciones de defensas de factores bióticos y abióticos.	cuantitativa	Número de metabolitos secundarios identificados.	Razón	Metabolitos secundarios identificados	Número de metabolitos	Tablas de los metabolitos secundarios

Fuente: Elaboración Propia

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y Diseño

3.1.1. Tipo de Investigación

Este estudio fue Experimental y prospectivo.

3.1.2. Diseño de Investigación

Experimental: manipulamos la variable experimental no comprobada “actividad fitotóxica” para describir las causas en condiciones rigurosamente controladas así se pudo observar la conducta de estos evitando que otros factores intervengan.

Prospectivo: Se determinó la relación entre las variables sobre los resultados obtenidos. Se registraron todos los hechos ocurridos a partir de la fecha de ejecución de la investigación.

3.2. Diseño Muestral

3.2.1. Población de estudio

La población estuvo constituida por diez (10) especies vegetales basado en su clasificación taxonómica (familia Piperáceae). Las especies vegetales fueron recolectadas en los Distritos de Mazán, Punchana y San Juan Bautista (Carretera Iquitos – Nauta km 29), Departamento de Loreto.

3.2.2. Muestras Vegetales

Constituida por las hojas, tallos y flores de diez (10) especies vegetales de la familia Piperáceae: *P. coruscan* Kunth, *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C. DC, *P. obliquum* Ruiz & Pav, *P. anonifolium* (Kunth), *P. tuberculatum* Jacq, *P. dumosum* Rudge, *P. reticulatum* L, *P. soledadense* Trel y *P. mituense* Trel & Yunck. Todas las especies vegetales fueron autenticadas por Centro de Investigación de Recursos Naturales Herbarium amazonense - AMAZ

3.2.2.1. *Piper coruscan Kunth.*

Arbusto con flores en forma de espiga, de esta especie se recolectaron las hojas, tallos y flores en el Distrito de Mazán, Fundo Estación biológica – Isula Rio Napo. En el mes de diciembre de 2019. Código de exicata 039849. Coordenadas en UTM, X: 710990; Y: 9619525 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.2. *Piper sancti-felicis Trel.*

Arbusto con flores en forma de espiga, de esta especie se recolectaron las hojas, tallos y flores, se recolecto en el Distrito de Punchana. En el mes de enero del 2020. Código exicata 036367. Coordenadas en UTM, X: 695305; Y: 9587673 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.3. *Piper casapiense (Miq) C. DC.*

Arbusto con flores en forma de espiga, de esta especie se recolectaron las hojas, tallos y flores en el Distrito de Mazán, Fundo Estación biológica – Isula Rio Napo, especie se encuentra en tipo de suelo arcilloso, bosque secundario no inundable. En el mes de diciembre del 2019. Código exicata 041044. Coordenadas en UTM, X: 711556; Y: 9623266 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.4. *Piper obliquum Ruiz & Pav.*

Arbusto con flores en forma de espiga, de esta especie se recolectaron las hojas, tallos y flores, en el Distrito de Mazán, Fundo Estación biológica – Isula, Rio Napo, se encuentra en tipo de bosque purma. En el mes de diciembre del 2019. Código exicata 027690. Coordenadas en UTM, X: 711396; Y: 9623398 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.5. ***Piper anonifolium (Kunth).***

Arbusto con flores en forma de espiga, de esta especie se recolectaron las hojas, tallos y flores en el Distrito de Mazán-fundo estación biológica-Isula, Rio Napo. En el mes de diciembre del 2019. Código exicata 042381. Coordenadas en UTM, X: 711399; Y: 9623398 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.6. ***Piper tuberculatum Jacq.***

Arbusto con flores en forma de espiga, de esta especie se recolectaron las hojas, tallos y flores a orillas del Rio Napo, en el Distrito de Mazán, Fundo Estación biológica-Isula. En el mes de diciembre del 2019. Código exicata 020115. Coordenadas en UTM, X: 710947; Y: 9619547 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.7. ***Piper dumosum Rudge.***

Arbusto con flores en forma de espiga, se recolectaron las hojas y tallos, en la carretera Iquitos-Nauta Km 29, a la entrada de Palo seco, Distrito de San Juan Bautista. En el año 2019. Código exicata 040311. Coordenadas en UTM, X: 675962; Y: 9559237 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.8. ***Piper reticulatum L.***

Arbusto con flores en forma de espiga, se recolectaron las hojas y tallos, en la carretera Iquitos – Nauta Km 29, a la entrada de Palo seco, Distrito de San Juan Bautista. En el año 2019. Código exicata 042127. Coordenadas en UTM, X: 676047; Y: 9559417 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.9. *Piper soledadense* Trel.

Arbusto con flores en forma de espiga, se recolectaron las hojas, tallos y florescencia en la carretera Iquitos-Nauta Km 29, a la entrada de Palo seco, Distrito de San Juan Bautista. En el año 2019. Código de exicata 033308. Coordenadas en UTM, X: 675915; Y: 9559216 (Anexos 1 y 2).



3.2.2.10. *Piper mituense* Trel. & Yunck.

Arbusto con flores en forma de espiga, se recolectaron las hojas y tallos, en la Carretera Iquitos-Nauta km 29 a la entrada de Palo seco, Distrito de San Juan Bautista. En el año 2019. Código de exicata 041473 Coordenadas en UTM, X: 676010; Y: 9559392 (Anexos 1 y 2).



3.3. Procedimiento de Recolección de Datos

3.3.1. Recolección de las Muestras

Las especies vegetales (flores, hojas y tallos) se recolectaron de su hábitat natural en los lugares donde exista mayor número de individuos de estas especies, (carretera Iquitos Nauta y en la estación biológica la Isula) preferentemente en época de floración, previa georreferenciación, un ejemplar codificado de cada especie se encuentra depositado en el HERBARIUM AMAZONENSE de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (Anexo 2).

Posteriormente las muestras fueron transportadas al Laboratorio de investigación de Productos Naturales Antiparasitarios de la Amazonia (LIPNAA) - Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonía (CIRNA). Seguidamente se procedió a limpiar y secar la muestra biológica durante 72 horas a temperatura de 20° C.

3.3.2. Preparación de las Muestras.

Las flores, hojas y tallos de las especies vegetales, una vez secas fueron molidas y pesadas, antes de ser extraída.

3.4. Protocolos de ensayos

3.4.1. Metodo de obtención de los aceites esenciales:

Para este procedimiento se montó un equipo de hidrodestilación, donde se utilizó un balón de fondo plano de 2000 mL, que fue colocado sobre una cocinilla eléctrica y con ayuda de un soporte universal, aros y unas nueces fue conectado a un refrigerante. Seguidamente se colocó entre 100 - 300 g de muestra seca en el balón, seguidamente se añadió 1000 mL de agua destilada y se procedió a extraer los aceites esenciales por arrastre de vapor, este procedimiento se realizó hasta agotamiento de los aceites esenciales de las muestras (los días de trabajo fueron de hasta 30 días por muestra dependiendo del rendimiento). Los aceites esenciales se obtuvieron mezclados con agua, para la separación se utilizó una pera de decantación y por densidad fue obtenido el aceite y algunas muestras fueron centrifugadas a 24000 RPM. Una vez obtenido el aceite puro se almacenaron en viales de color ámbar, hasta su utilización para los ensayos actividad fitotóxica (anexo 3), este proceso se repitió para cada una de las especies en estudio.

3.4.2. Actividad fitotóxica

En este ensayo se utilizó semilla de las especies vegetales de *Lolium perenne* L., una hierba invasiva que compite con los cultivos, que crea resistencia fácilmente a los herbicidas (M. T. Bararpour et al., 2017; T. Bararpour et al., 2020; Fernández-Moreno et al., 2017). *Lactuca sativa* F. var. Carrascoy, esta variedad de semilla es empleada habitualmente en los estudios de interacciones alelopáticas. Las especies de *L. perenne* L y *L. sativa* F. se seleccionaron por su capacidad germinativa y por su rápido crecimiento (<72h y <24h respectivamente). Los aceites esenciales se ensayaron para ver el efecto que producen sobre la germinación de las semillas, longitud radicular y foliar de *L. perenne* L y sobre la germinación y longitud radicular de *L. sativa* F. (Andrés et al., 2017).

3.4.2.1. Ensayo de actividad fitotóxica (anexo 3):

El ensayo se realizó en placas de 12 pocillos (2 cm² cada pozo). En cada pocillo se incluyó discos de papel filtro (Whatman n^o 1, 2.0 cm² de diámetro) tratados con 20 µl de aceite esencial (100 µg/cm²), disolvente como control (acetona), 10 semillas y 500 µl de agua destilada. Las placas fueron tapadas, selladas con parafilm y colocadas en una cámara de cultivo vegetal (25 ± 1 °C, HR>70%, Luz: Oscuridad 16:8 h) durante 7 días. De cada muestra se realizó 4 réplicas. La germinación se controló cada 24 h hasta

completar los 7 días, empezando a las 72 horas para *L. perenne* L y a las 24 horas para *L. sativa* F.

3.4.3. **Metodo de identificación de compuestos por cromatografía de gases acoplada a masa.**

La determinación cualitativa y cuantitativa de los compuestos presentes en los aceites esenciales se realizó por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS), utilizando un equipo Shimadzu GC-2010 acoplado a un detector de masas Shimadzu GCMS-QP2010-Ultra con una fuente ionización por impacto electrónico a 70 eV y utilizando un analizador Cuadrupolo Simple. Se utilizó Helio como gas portador. La cromatografía se llevó a cabo con una columna capilar Teknokroma TRB-5 (95%) Dimetil- (5%) difenilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm ID y 0.25 µm de espesor de fase. Las condiciones de trabajo utilizadas han sido: inyección en modo Split inyectando 1 µl de muestra con una relación de división (20:1), temperatura del inyector 300 °C, temperatura de la línea de transferencia conectada al espectrómetro de masas 250 °C y temperatura de la fuente de ionización 220 °C. La temperatura de la columna inicial fue de 70 °C, calentando hasta 290 °C a 6°C/min y dejando a 290 °C durante 15 min. Los espectros de masas y el tiempo de retención han sido utilizados para identificar los compuestos por comparación con los encontrados en la base de datos Wiley (Wiley 275 Mass Spectra Database, 2001), mientras que para la cuantificación se ha utilizado los % de área relativos de todos los picos obtenidos en los cromatogramas.

3.5. **Materiales y/o reactivos, instrumentos y equipos.**

3.5.1. **Materiales para la extracción de aceites esenciales.**

- Refrigerante recto
- Vasos de precipitados de 25, 50, 100, 250, 500, 1000 y 2000 mL
- Pipetas Pasteur
- Viales color ámbar
- Embudo de filtración simple
- Erlenmeyer de 25, 50, 100, 250 y 500 mL
- Balones de 1000 y 2000 mL
- Peras de separación de 25, 50, 100, 250, 500, 1000 y 2000 mL
- Probetas de 5, 10 y 25 mL
- Soporte universal
- Nueces
- Aros de metal

3.5.2. Materiales para ensayo de actividad fitotóxica.

- Micropipetas 20, 200 y 1000 μ l
- Tips de 20, 200 y 1000 μ l
- Placas de vidrio de 12 pocillos
- Papel filtro de 2 cm² de diámetro
- Parafilm
- Semillas de *L. sativa* F
- Semillas de *L. perenne* L
- Viales

3.5.3. Materiales para la identificación de compuestos químicos por cromatografía de gases acoplada a masa

- Filtro de 17 mm de longitud 0.2 μ m de pozo
- Viales de 1.8 mL
- Balanza Analítica (Blas 31 Plus)
- Micro pipeta de 100 – 1000 μ l
- Puntas de micropipeta
- Vortex

3.5.4. Solventes.

- Diclorometano
- Hexano.
- Agua destilada
- Acetona

3.5.5. Equipos.

- Cocina eléctrica
- Balanza Analítica (Blas 31 Plus)
- Cromatógrafo de gases-acoplado a masas
- Cámara climatizada

3.6. Procesamiento y Análisis de los Datos.

- Para el análisis de datos se midió la longitud radicular y foliar, digitalmente con el programa de procesamiento de imagen digital *ImageJ* (Andrés et al., 2017; Reina et al., 2012).
- (*) Indica las diferencias significativas respecto del control, $p < 0,05$ con 95,0% de nivel de confianza, prueba de diferencias mínimas significativas de Fisher (LSD).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Datos obtenidos de las especies vegetales del genero *Piper*.

Como parte de este trabajo de tesis se ha extraído el aceite esencial de diez (10) especies vegetales del género *Piper*, utilizando el método de hidrodestilación, en la tabla 5 se muestra las especies vegetales recolectadas, parte de la planta utilizada (hojas, tallos y flores), masa de la muestra seca, masa de los aceites esenciales y porcentaje de rendimiento.

Tabla 5. Porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de las especies vegetales del género *Piper*

N°	Especie Vegetal	Parte de la planta	Masa de la muestra seca	Masa de aceites esenciales	% de rendimiento
01	<i>P. coruscan</i>	Hojas, tallos y flores	589,13 g	2.80 g	0,47%
02	<i>P. sancti-felicis</i>	Hojas, tallos y flores	458,03 g	4,05 g	0,88%
03	<i>P. casapiense</i>	Hojas, tallos y flores	422,69 g	0,53 g	0,13%
04	<i>P. obliquum</i>	Hojas, tallos y flores	1239,67 g	1,56 g	0,13%
05	<i>P. anonifolium</i>	Hojas, tallos y flores	1246,35 g	1,16 g	0,10%
06	<i>P. tuberculatum</i>	Hojas, tallos y flores	565,39 g	0,74 g	0,13%
07	<i>P. dumosum</i>	Hojas y tallos	1102,49 g	0,86 g	0,08%
08	<i>P. reticulatum</i>	Hojas y tallos	766,39 g	0,97 g	1,26%
09	<i>P. soledadense</i>	Hojas, tallos y flores	442,23 g	2,41 g	0,54%
10	<i>P. mituense</i>	Hojas y tallos	393,76 g	0,44 g	0,11%

De las diez (10) muestras de aceites esenciales extraídos del género *Piper*, se realizaron ensayos de fitotoxicidad frente a dos especies de plantas, una monocotiledónea *L. perenne* L. (gramíneas) y una dicotiledónea *L. sativa* F., con el fin de conocer la capacidad invasiva de las especies y que puedan ser promisorios fitotóxicos. Los resultados de la evaluación de los efectos fitotóxicos de los aceites esenciales se muestran en las **figuras 6** (*L. perenne* L) y **7** (*L. sativa* F).

4.2. Evaluación de los efectos fitotóxicos de las especies Piper frente a *Lolium perenne* L.

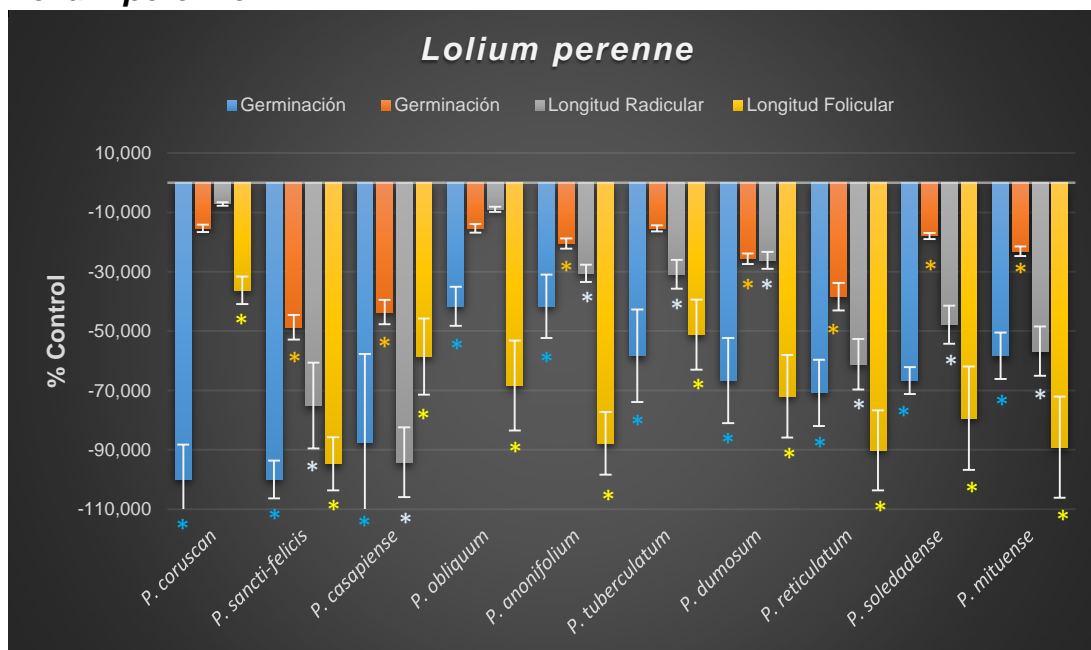


Figura N° 6. Actividad fitotóxica de los aceites esenciales del género Piper estudiados, sobre *Lolium perenne* L. (germinación, longitud radicular y longitud foliar (expresado como % respecto al control) (n=25)

En la figura 6, se puede observar el importante efecto fitotóxico de los aceites esenciales de las especies vegetales del género *Piper* en estudio (*P. coruscan* Kunth, *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C. DC, *P. obliquum* Ruiz & Pav, *P. anonifolium* (Kunth), *P. tuberculatum* Jacq, *P. dumosum* Rudge, *P. reticulatum* L, *P. soledadense* Trel y *P. mituense* Trel & Yunck; importancia de la actividad según orden), ya que inhibieron significativamente la germinación de las semillas de *L. perenne* L. a las 72 horas del experimento, y que este resultado sigue siendo significativo a las 168 horas para siete de las especies (*P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq), *P. reticulatum* L, *P. dumosum* Rudge, *P. soledadense* Trel, *P. mituense* Trel & Yunck y *P. anonifolium* (Kunth)).

Con respecto al crecimiento foliar se observa que todos los aceites esenciales inhibieron significativamente el desarrollo de las hojas, mostrando fuertes efectos fitotóxicos frente a *L. perenne* L. también, se muestra los importantes efectos fitotóxicos

sobre las raíces de *L. perenne* L. de los aceites esenciales de *P. casapiense* (Miq), *P. sancti-felicis* Trel, *P. reticulatum* L, *P. mituense* Trel & Yunck, *P. soledadense* Trel, *P. tuberculatum* Jacq, *P. anonifolium* (Kunth) y *P. dumosum* Rudge (figura 6).

4.3. Evaluación de los efectos fitotóxicos de las especies *Piper* frente *Lactuca sativa* F.

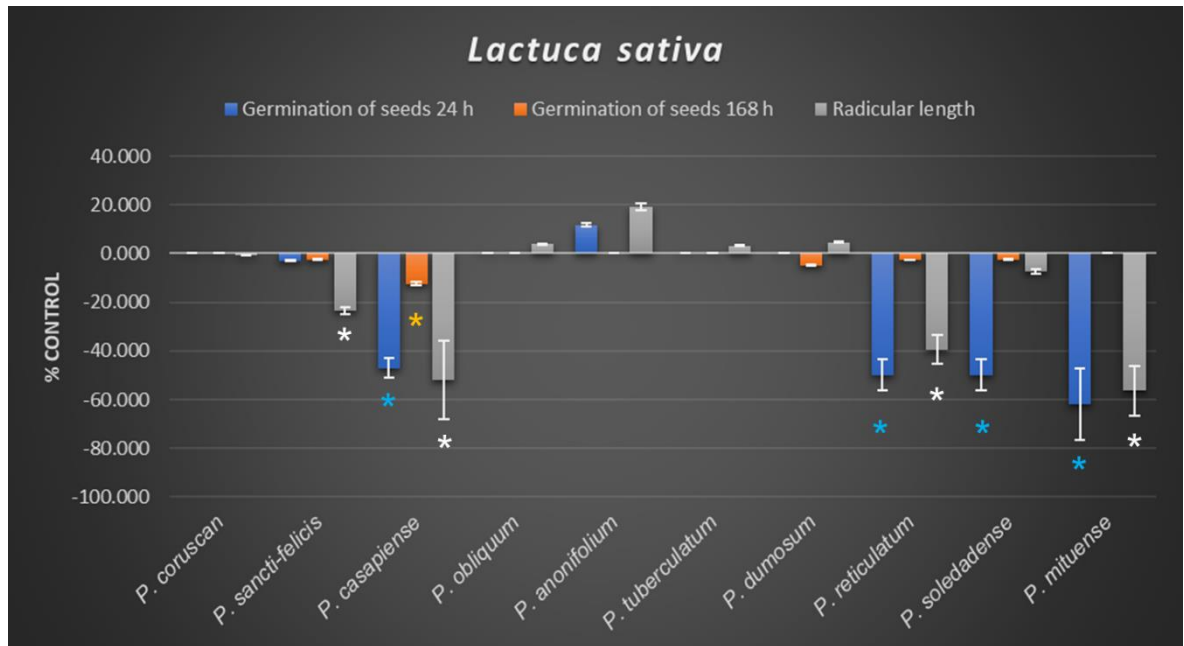


Figura N° 7. Actividad fitotóxica de los aceites esenciales de las especies del género *Piper* estudiados, frente *Lactuca sativa* F. (germinación y longitud radicular, expresado cómo % respecto al control) (n=25).

En la figura 7, se observa los resultados de los ensayos de actividad fitotóxica frente a *L. sativa* F., se puede ver que los efectos frente a plantas tipo dicotiledóneas de los aceites esenciales de *Piper*, no es tan significativo como frente a la monocotiledónea de *L. perenne*.

Solo el aceite esencial de *P. casapiense* (Miq) C.DC presentó efectos fitotóxicos significativos inhibiendo tanto la germinación de las semillas a las 24 y 168 horas, además, de afectar el crecimiento de las raíces de *L. sativa* F. Las especies de *P. reticulatum* L y *P. mituense* Trel & Yunck fueron activos sobre la geminación de las semillas a las 24 horas y al crecimiento de las raíces. Finalmente *P. sancti-felicis* trel solo afecto el crecimiento de las raíces de *L. sativa* F (figura 7).

En este trabajo de tesis solo se realizó el análisis por cromatografía de gases acoplada a masas de los aceites esenciales de *P. sancti-felicis Trel*, *P. casapiense (Miq) C.DC*, *P. reticulatum L* y *P. mituense Trel & Yunck*, debido que presentaron los mejores resultados de actividad fitotóxica frente *L. perenne L.* y *L. sativa F.* Se presenta una constancia (Anexo 5) de todos los constituyentes químicos encontrados en las muestras de los aceites esenciales.

4.4. Resultados de metabolitos secundarios de los aceites esenciales analizados por cromatografía de gases acoplado a masa

El análisis de los espectros de masas y el tiempo de retención que fueron utilizados para identificar los compuestos por comparación con los encontrados en la base de datos Wiley (Wiley 275 Mass Spectra Database, 2001), mientras que para la cuantificación se han utilizado los % de área relativos de todos los picos obtenidos en los cromatogramas.

El compuesto principal de *P. sancti-felicis Trel*, fue el apiol (76,08%), seguido de compuestos minoritarios como cariofilano (4,07%), croweacin (1,91%), óxido de cariofilano (1,87%), α -humuleno (1,75%), germacreno-D (1,61%), δ -cadineno (1,35%), eicosano (1,33%), piperitone (1,23%) y viridiflorol (1,10%), los demás compuestos se encuentran en concentraciones menores al 1%, como se muestra en el (Anexo 4).

En el caso del aceite esencial de *P. casapiense (Miq) C.DC*, no se ha identificado los compuestos 49 (17,01%; Anexo 4), (Anexo 5, compuesto 49, $m/z=93/91/79/133/105/119/107/189/81/67$), 50 y 51 (22,64%, 5,53% respectivamente; Anexo 4), (Anexo 5, compuesto 50 y 51, $m/z=93/133/91/105/79/107/119/77/106/121$), es dos últimos compuestos, no identificado presentan los mismos fragmentos de masa pero diferentes tiempos de retención (T. Ret.=21,13 y 21,55 respectivamente), lo cual podría indicar que se trata de compuestos isoméricos y se trata de compuestos con altas concentraciones en la muestra, luego tenemos el óxido de cariofilano (10,18%), cariofilano (4,73%), (1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene (3,80%), δ -cadineno (2,08%), α -humuleno (2,50%), (1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-tetrametilbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-dieno (2,17%), (+)-Aromadendreno (1,11%), α -Cubebeno (1,05%) y (4aS,8R)-4a,8-dimetil-4,4a,5,6,7,8-hexahidronaftaleno-2(3H)-ona (1,04%), los demás compuestos se encuentran en concentraciones inferior al 1%.

Con respecto al aceite esencial de *P. reticulatum* L, se han identificado como compuestos mayoritarios a apiol (14,99%), germacreno-D (12,62%), (1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetrametilbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-dieno (8,07%), δ -cadineno (5,99%), seguidos de copaeno (4,60%), cariofilano (4,46%), trans- α -bergamotene (4,25%), naptaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-(1- α ,4a- α ,8a- α) (4,00%), γ -cadineno (2,51%), β -elemeno (2,45%), δ -elemeno (2,15%), (1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropil-1-metil-3-metilenetriciclo [4.4.0.0.2,7]decano (1,90%), α -humuleno (1,61%), germacreno B (1,37%), δ -cadinol (1,27%), α -cubebeno (1,16%) y óxido de cariofilano (1,16%), los demás compuestos se encuentran en concentraciones del 1% o menos (Anexo 4).

Finalmente tenemos el aceite esencial de *P. mituense* Trel & Yunck, que tiene como compuesto principal al apiol (51,58%), seguido de (1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetrametilbicyclo [8,1,0]undeca-2,6-dieno (9,01), germacreno-D (6,72%), miristicina (4,59%), cariofilano (2,87%), α -cubebene (2,80%), β -elemeno (2,11%), copaeno (1,85%), trans- α -bergamoteno (1,42%) y ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno) (1,04%), los demás compuestos se encuentran en concentraciones menores al 1% (Anexo 4).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Las especies de la familia Piperaceae son ampliamente investigados debido a su gran diversidad estructural química, importancia de sus actividades biológica, importancia económica de sus especies y por ser referente quimiotaxómico y ecológico.

Las especies de *Piper* producen metabolitos secundarios con una gran diversidad estructural y diversas actividades biológicas. Se sabe que los aceites esenciales extraídos de diferentes órganos de especies del género *Piper* están constituidos principalmente por hidrocarburos monoterpénicos (ejemplo, α -pineno, mirceno, limoneno, α -terpineno, *p*-cimeno, β -ocimeno), monoterpenos oxigenados (ejemplo, 1,8-cineol, linalol, terpineno-4-ol, borneol, alcanfor), hidrocarburos sesquiterpénicos (ejemplo, β -cariofileno, α -humuleno, germacreno D, biciclogermacreno, α -cubebeno), sesquiterpenos oxigenados (ejemplo, Espatuleno, (E)-nerolidol, óxido de cariofileno, α -cadinol, epi- α -bisabolol) y fenilpropanoides (ejemplo, safrol, apiol, dilapiole, miristicina, elemicina, (Z)-asarona, eugenol) (Da Silva et al., 2017; Nascimento et al., 2012; Paz et al., 2017).

Los compuestos encontrados en los aceites esenciales de diferentes especies de *Piper*, se han reportado que muchos son biológicamente activos y han demostrado importantes actividades como insecticida (Autran et al., 2009), leishmácida, antioxidante, antifúngico, antiinflamatorio, antiulceroso, larvicida, ixodicida, antihelmíntico, antitumoral (Takeara et al., 2017), antialimentario, nematocida y fitotóxico (Andrés et al., 2017; Bos et al., 2007; Jaramillo-Colorado et al., 2019).

El análisis del perfil Químico por cromatografía de gases acoplada a masas solo se realizó de los aceites esenciales de *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C.DC, *P. reticulatum* L y *P. mituense* Trel & Yunck, debido que presentaron los mejores resultados de actividad fitotóxica frente *L. perenne* L y *L. sativa* F.

En el análisis químico de los aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a masas (GC-MS) las especies de *P. sancti-felicis* Trel (76,08%), *P. reticulatum* L (14,99%) y *P. mituense* Trel & Yunck (51,58%), se observó que el compuesto mayoritario para estas tres especies fue el fenilpropanoide apiol (figura 5), el cual se podría ser el responsable de la actividad fitotóxica, los resultados muestran fuerte inhibición de la germinación y el crecimiento de la raíces y hojas de *L. perenne*, además de afectar la germinación y crecimiento de las raíces de *L. sativa* L. En

publicaciones previas se encuentra efectos similares del aceite esencial de *P. dilatatum*, la cual inhibe el crecimiento de hojas y raíces de *L. perenne* L y raíces de *L. sativa* F, siendo su compuesto mayoritario el apiol (79%) (Jaramillo-Colorado et al., 2019). Sin embargo, habría que realizar los ensayos de actividad fitotóxica del apiol para confirmar su actividad.

Hay publicaciones que indican que el apiol presenta actividad de efectos tóxico frente a termitas (Meepagala et al., 2006), antifúngica (*Aspegillus parasiticus*) (Razzaghi-Abyaneh et al., 2007), antiproliferativa (Lien et al., 2011).

Además, hay que indicar que el apiol se encuentra presente en algunas especies de *Piper*, muchas de ellas en rangos de concentración altas que van desde el 79-11 % como *P. dilatatum* (Jaramillo-Colorado et al., 2019), *P. lineatum* (Valarezo et al., 2020), *P. krukaffii*, *P. mikanianum*, *P. lanceifolium* y *P. artanthe* (Salehi et al., 2019) y otros en concentraciones menores ($\leq 8\%$) como *P. divaricatum* (Jaramillo-Colorado et al., 2019), *P. arboretum* y *P. marginatum*, *P. longum*, *P. cachimboense*, *P. austrosinense*, *P. barbatum* y *P. puberulum* (Salehi et al., 2019).

Después del apiol tenemos el sesquiterpeno germacreno D, que fue identificado en las cuatro especies de *Piper* con mayor actividad fitotóxica, sin embargo, *P. reticulatum* L (12,62%) y *P. mituense* Trel & Yunck (6,72%), fueron donde se encontraron concentraciones mayores. Mientras que en *P. sancti-felicis* Trel (1,61%) y *P. casapiense* (Miq) C.DC (0,98%) se encontró en concentraciones muy bajas. Investigaciones indican que este compuesto se encuentra presente en el aceite esencial de especies de *Teucrium Maghrebinum* (Lamiaceae), *Artemisia iwayomogi* (Asteraceae), *Hypericum perforatum* (Clusiaceae) y estas especies han demostrado tener actividad fitotóxica (Amri et al., 2013; Salehi et al., 2019).

Germacrano D, ha demostrado poseer propiedades antibacterianas (Pérez Zamora et al., 2018), y se encuentra como componente mayoritario en especies de *P. crassinervium*, *P. umbellatum* y en *P. aduncum*, *P. amalago*, *P. cernuum*, *P. gaudichaudianum*, *P. leptorum*, *P. marginatum*, *P. solmsianum* y *P. xylosteooides* se encuentra como componente minoritario (Salehi et al., 2019).

El compuesto 49 y 50, a pesar de ser compuestos mayoritarios en *P. casapiense* (Miq) C.DC, la similitud de los datos de masas solo representa el 86%, por lo que no se puede confirmar la identidad de estos compuestos. En esta especie también se

encontró al sesquiterpeno óxido de cariofileno (10,18%) como compuesto en buena concentración y también ha sido encontrado en los aceites esenciales de diferentes especies donde mostraron efectos fitotóxicos (Amri et al., 2013; De Martino et al., 2010; Mancini et al., 2009).

Tenemos compuestos de tipo hidrocarburos monoterpénicos que se encuentran en concentraciones minoritarias como α -pipeno y β -pineno presentes en *P. sancti-felicis Trel* y *P. mituense Trel & Yunck*, compuesto limoneno que está en *P. sancti-felicis Trel*, *P. reticulatum L* y *P. mituense Trel & Yunck* (ver tabla 6). Todos estos compuestos han sido identificados en diferentes especies de plantas y como compuestos puros han sido ensayados como fitotóxicos, mostrando muy buenos resultados (Amri et al., 2013), además estos compuestos son comunes en las especies de *Piper* (Salehi et al., 2019).

Si bien los compuestos óxido de cariofileno, α -pipeno, β -pineno y limoneno se encuentran en concentraciones menores, pueden tener actividad sinérgica y contribuir con los compuestos mayoritarios para dar mayor actividad fitotóxica a estas especies. Es reconocido que el α -pineno tiene un papel ecológico importante en las interacciones alelopáticas entre plantas, por lo que puede ser considerado como candidato potencial para el desarrollo de nuevos herbicidas (Abraham et al., 2000, 2003; Amri et al., 2013). *P. auritum* los compuestos α y β -pineno, apenas están presentes, sin embargo, son los responsables de la actividad fitotóxica (Rizvi, 1992).

Compuestos como α -humuleno, cariofilano y copaeno, están presentes en las cuatro especies: *P. sancti-felicis Trel*, *P. casapiense (Miq) C.DC*, *P. reticulatum L* y *P. mituense Trel & Yunck*. También tenemos al compuesto δ -cadineno presente en *P. sancti-felicis Trel*, *P. casapiense (Miq) C.DC* y *P. reticulatum L*, y finalmente los compuestos β -elemeno, espatulenol presentes en *P. reticulatum L* y *P. mituense Trel & Yunck* (ver Anexo 4). todos estos compuestos han sido identificados en diferentes especies de *Piper* (Salehi et al., 2019). Sin embargo, sus actividades como fitotóxicos no han sido ensayados de forma individual, la cual sería muy importante realizar con el fin de poder identificar quienes son los responsables de la importante actividad.

En este trabajo se puede ver claramente que todas las especies de *Piper*: *P. coruscan Kunth*, *P. sancti-felicis trel*, *P. casapiense (Miq) C. DC*, *P. obliquum Ruiz & Pav*, *P. anonifolium (Kunth)*, *P. tuberculatum Jacq*, *P. dumosum Rudge*, *P. reticulatum L*, *P. soledadense Trel* y *P. mituense Trel & Yunck*; fueron activos frente a la

monocotiledónea *L. perenne*, que es una de las diez malezas más abundantes y problemáticas, que fácilmente crea resistencia a los herbicidas como glifosato, uno de los más usados en todo el mundo (M. T. Bararpour et al., 2017; T. Bararpour et al., 2020). Mientras que con la dicotiledónea *L. sativa*, solo *P. casapiense*, *P. reticulatum*, *P. mituese* y *P. sancti-felicis* fueron activos. Esto indica que hay una mejor respuesta de estos aceites esenciales frente a malezas del tipo monocotiledónea, siendo un aporte muy importante que merece profundizar los estudios.

De estas especies solo *P. sanctifelicis* Trel ha sido estudiado y reporta efecto como fitotóxico, siendo sus compuestos mayoritarios δ -3-careno, limoneno, seguido de *p*-cimeno, β -pineno y nerolidol (Jaramillo-Colorado et al., 2019), sin embargo, si lo comparamos con la especie de *P. sancti-felicis* de nuestro trabajo podemos observar que en esta especie el compuesto mayoritario es el apiol, seguido de minoritarios como α -pineno, β -pineno, limoneno, cariofileno y neridiol, compuestos que están presentes en estudios previos por otro autor (Jaramillo-Colorado et al., 2019).

Sin embargo, es la primera vez que se reporta sus efectos fitotóxicos frente a *L. perenne* y *L. Sativa* de especies de *Piper* en la Amazonia Peruana.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación se estudió la actividad fitotóxica de diez aceites esenciales extraídos de especies del género *Piper*, los cuales mostraron importantes efectos fitotóxicos (inhibición de germinación, crecimiento radicular y foliar), resaltando la importante actividad de todos los aceites esenciales frente a la monocotiledónea *L. perenne* que fue la más sensible. Los aceites esenciales de *Piper* también fueron activos frente a *L. sativa*, sin embargo su efecto fue menor, pero significativo.

Las especies de *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C.DC, *P. reticulatum* L y *P. mituense* Trel & Yunck, fueron los que presentaron los resultados de actividad fitotóxica frente *L. perenne* y *L. sativa*. En el análisis por cromatografía de gases acoplada a masas se observa que las especies *P. sancti-felicis* Trel (76,08%), *P. reticulatum* L (14,99%) y *P. mituense* Trel & Yunck (51,58%), el constituyente químico mayoritario es el fenilpropanoide apiol. Mientras que para *P. casapiense* (Miq) C.DC los compuestos 49 y 50, presenta similitud de los datos de masas en el 86%, por lo que no se puede confirmar la identidad con certeza de estos compuestos. Estos resultados indican que los metabolitos secundarios presentes en *Piper*, presentan importante actividad fitotóxica

Además, es importante destacar que es la primera vez que se presentan estudios de actividad fitotóxica de las especies vegetales del género *Piper* (*P. coruscan* Kunth, *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C.DC, *P. obliquum* Ruiz & Pav, *P. anonifolium* Kunth, *P. tuberculatum* Jacq, *P. dumosum* Rudge, *P. reticulatum* L, *P. soledadense* Trel y *P. mituense* Trel & Yunck), recolectadas en la Amazonia Peruana, obteniendo excelentes resultados para continuar los estudios como potenciales herbicidas.

En este trabajo se puede ver claramente que se han obtenido buenos resultados, todas las especies de *Piper*: *P. coruscans* Kunth, *P. sancti-felicis* Trel, *P. casapiense* (Miq) C.DC, *P. reticulatum* L, *P. dumosum* Rudge, *P. soledadense* Trel, *P. mituense* Trel & Yunck, *P. tuberculatum* Jacq, *P. obliquum* Ruiz & Pav y *P. anonifolium* Kunth fueron activos frente a la monocotiledónea *L. perenne*, que es una de las diez malezas más abundantes y problemáticas, que fácilmente crea resistencia a los herbicidas como glifosato, uno de los más usados en todo el mundo.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios para la búsqueda de nuevas alternativas para el control de malezas que ocasionan grandes pérdidas a los agricultores cada año.
2. Realizar los ensayos de actividad fitotóxica de los compuestos puros (muchos pueden ser comprados), con el fin de realizar el análisis de relación estructura actividad y poder conocer la contribución individual de los compuestos en la actividad.
3. Considerar los aspectos físicos y químicos durante la extracción de los aceites esenciales por el método de hidrodestilación.
4. Extender los estudios de la actividad fitotóxica de los aceites esenciales de la familia Piperaceae en la semilla monocotiledónea, con el fin de obtener potenciales herbicidas naturales que ayuden a reducir el uso excesivo de herbicidas sintéticos que vienen causando un gran daño a la salud humana y al medio ambiente.

CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abd El-Gawad, A. M. (2016). Chemical constituents, antioxidant and potential allelopathic effect of the essential oil from the aerial parts of *Cullen plicata*. *Industrial Crops and Products*, 80, 36-41.
2. Abraham, D., Braguini, W. L., Kelmer-Bracht, A. M., & Ishii-Iwamoto, E. L. (2000). Effects of Four Monoterpenes on Germination, Primary Root Growth, and Mitochondrial Respiration of Maize. *Journal of Chemical Ecology*, 26(3), 611-624.
3. Abraham, D., Francischini, A. C., Pergo, A. M., Kelmer-Bracht, A. M., & Ishii-Iwamoto, E. L. (2003). Effects of alpha-pinene on the mitochondrial respiration of maize seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry (France)*. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2004002224>
4. Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., & Jamoussi, B. (2013). Reviews on phytotoxic effects of essential oils and their individual components: News approach for weeds management. *International journal of applied biology and pharmaceutical technology*, 4(1), 96-114.
5. Andrés, M. F., Rossa, G. E., Cassel, E., Vargas, R. M. F., Santana, O., Díaz, C. E., & González-Coloma, A. (2017). Biocidal effects of Piper hispidinervum (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1086-1092.
6. Andriana, Y., Xuan, T. D., Quy, T. N., Tran, H.-D., & Le, Q.-T. (2019). Biological Activities and Chemical Constituents of Essential Oils from Piper cubeba Bojer and Piper nigrum L. *Molecules*, 24(10), 1876.
7. Autran, E. S., Neves, I. A., da Silva, C. S. B., Santos, G. K. N., da Câmara, C. a. G., & Navarro, D. M. a. F. (2009). Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against Aedes aegypti of essential oils from Piper marginatum Jacq. (Piperaceae). *Bioresource Technology*, 100(7), 2284-2288.

8. Azirak, S., & Karaman, S. (2008). Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 58(1), 88-92.
9. Bararpour, M. T., Norsworthy, J. K., Burgos, N. R., Korres, N. E., & Gbur, E. E. (2017). Identification and Biological Characteristics of Ryegrass (*Lolium spp.*) Accessions in Arkansas. *Weed Science*, 65(3), 350-360.
10. Bararpour, T., Bond, J. A., Singh, G., Hale, R. R., Edwards, M., & Lawrence, B. H. (2020). Glyphosate-Resistant Italian Ryegrass (*Lolium perenne L. spp. Multiflorum*) Control and Seed Suppression in Mississippi. *Agronomy*, 10(2), 162.
11. Barrios-González, J. (2018). Secondary Metabolites Production: Physiological Advantages in Solid-State Fermentation. En A. Pandey, C. Larroche, & C. R. Soccol (Eds.), *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 257-283).
12. Bos, R., Woerdenbag, H. J., Kayser, O., Quax, W. J., Ruslan, K., & Elfami. (2007). Essential Oil Constituents of *Piper cubeba L. fils.* From Indonesia. *Journal of Essential Oil Research*, 19(1), 14-17.
13. Bosquiroli, L. S. S., Demarque, D. P., Rizk, Y. S., Cunha, M. C., Marques, M. C. S., Matos, M. de F. C., Kadri, M. C. T., Carollo, C. A., & Arruda, C. C. P. (2015). In vitro anti-Leishmania infantum activity of essential oil from *Piper angustifolium*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2), 124-128.
14. Cantrell, C. L., Dayan, F. E., & Duke, S. O. (2012). Natural Products As Sources for New Pesticides. *Journal of Natural Products*, 75(6), 1231-1242.
15. Castro, P., & Evelyn, F. (2017). Problemática del uso de glifosato. *Universidad Nacional Agraria La Molina*. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3011>
16. Choopayak, C., Woranoot, K., Naree, P., Kongbangkerd, A., Wongkrajang, K., & Buaruaeng, R. (2015). Phytotoxic effects of *Piper betle L.* extracts on germination of *Eclipta prostrata L.* and *Chloris barbata Sw.* Weeds. *International Journal of Science*, 12(1), 11-24.

17. Cobb, A. H., & Reade, D. J. P. H. (2010). Herbicide Discovery and Development. En *Herbicides and Plant Physiology* (pp. 27-49). John Wiley & Sons, Ltd.
18. Current Status of the International Herbicide-Resistant Weed Database. (s. f.). Recuperado 26 de mayo de 2021, de www.weedscience.org
19. da Silva, J. K., da Trindade, R., Alves, N. S., Figueiredo, P. L., Maia, J. G. S., & Setzer, W. N. (2017). Essential Oils from Neotropical *Piper* Species and Their Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(12), Article 12.
20. Dayan, F. E., & Duke, S. O. (2014). Natural Compounds as Next-Generation Herbicides. *Plant Physiology*, *166*(3), 1090-1105.
21. De Feo, V., De Simone, F., & Senatore, F. (2002). Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, *61*(5), 573-578.
22. De Martino, L., Formisano, C., Mancini, E., De Feo, V., Piozzi, F., Rigano, D., & Senatore, F. (2010). Chemical composition and phytotoxic effects of essential oils from four *Teucrium* species. *Natural Product Communications*, *5*(12), 1969-1976.
23. de Moraes, S. M., Facundo, V. A., Bertini, L. M., Cavalcanti, E. S. B., Anjos Júnior, J. F. dos, Ferreira, S. A., de Brito, E. S., & de Souza Neto, M. A. (2007). Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, *35*(10), 670-675.
24. Engewald, W., & Dettmer-Wilde, K. (2014). Theory of Gas Chromatography. En K. Dettmer-Wilde & W. Engewald (Eds.), *Practical Gas Chromatography: A Comprehensive Reference* (pp. 21-57). Springer.
25. Fernández-Moreno, P. T., Alcántara-de la Cruz, R., Smeda, R. J., & De Prado, R. (2017). Differential Resistance Mechanisms to Glyphosate Result in Fitness Cost for *Lolium perenne* and *L. multiflorum*. *Frontiers in Plant Science*, *8*.
26. Girola, N., Figueiredo, C. R., Farias, C. F., Azevedo, R. A., Ferreira, A. K., Teixeira, S. F., Capello, T. M., Martins, E. G. A., Matsuo, A. L., Travassos, L. R., & Lago, J. H. G. (2015). Camphene isolated from essential oil of *Piper cernuum* (Piperaceae)

- induces intrinsic apoptosis in melanoma cells and displays antitumor activity in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 467(4), 928-934.
27. Gordo, D. A. M. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81-104.
 28. Gupta, P. K. (2011). Herbicides and fungicides. En R. C. Gupta (Ed.), *Reproductive and Developmental Toxicology* (pp. 503-521). Academic Press.
 29. Gutiérrez Bouzán, M. C., & Droguet, M. (2002). *La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor*. <https://upcommons.upc.edu/handle/2099/2733>
 30. Heap, I. (2014). Global perspective of herbicide-resistant weeds. *Pest Management Science*, 70(9), 1306-1315.
 31. Holt, J. S. (2013). Herbicides. En S. A. Levin (Ed.), *Encyclopedia of Biodiversity (Second Edition)* (pp. 87-95). Academic Press.
 32. Jaramillo, M. A., Callejas, R., Davidson, C., Smith, J. F., Stevens, A. C., & Tepe, E. J. (2008). Phylogeny of the Tropical Genus Piper Using ITS and the Chloroplast Intron psbJ-petA. *Systematic Botany*.
 33. Jaramillo, M. A., & Manos, P. S. (2001). Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus Piper (Piperaceae). *American Journal of Botany*, 88(4), 706-716.
 34. Jaramillo-Colorado, B. E., Pino-Benitez, N., & González-Coloma, A. (2019). Volatile composition and biocidal (antifeedant and phytotoxic) activity of the essential oils of four Piperaceae species from Choco-Colombia. *Industrial Crops and Products*,
 35. Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99(18), 8788-8795.

36. Kuete, V., Viertel, K., & Efferth, T. (2013). 18—Antiproliferative Potential of African Medicinal Plants. En V. Kuete (Ed.), *Medicinal Plant Research in Africa* (pp. 711-724). Elsevier.
37. Labrada, R., Caseley, J. C., & Parker, C. (1996). *Manejo de Malezas para Países en Desarrollo. (Estudio FAO Producción y Protección Vegetal—120)*.
38. Laosinwattana, C., Wichittrakarn, P., & Teerarak, M. (2018). Chemical composition and herbicidal action of essential oil from *Tagetes erecta* L. leaves. *Industrial Crops and Products*, 126, 129-134.
39. León, B. (2013). Piperaceae endémicas del Perú. *Revista Peruana de Biología*, 13(2), 492s-563s.
40. Lien, H.-M., Kuo, P.-T., Huang, C.-L., Kao, J.-Y., Lin, H., Yang, D.-Y., & Lai, Y.-Y. (2011). Study of the Anti-Proliferative Activity of 5-Substituted 4,7-Dimethoxy-1,3-Benzodioxole Derivatives of SY-1 from *Anrodia camphorata* on Human COLO 205 Colon Cancer Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2011.
41. *Lolium perenne* L. (2020, julio 20). Flora Pratense y Forrajera Cultivada de la Península Ibérica. https://www.unavarra.es/herbario/pratenses/htm/Loli_pere_p.htm
42. Lorenzo, M., & Pico, Y. (2017). Gas Chromatography and Mass Spectroscopy Techniques for the Detection of Chemical Contaminants and Residues in Foods. En D. Schrenk & A. Cartus (Eds.), *Chemical Contaminants and Residues in Food (Second Edition)* (pp. 15-50). Woodhead Publishing.
43. Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Terpenoids. En S. Badal & R. Delgoda (Eds.), *Pharmacognosy* (pp. 233-266). Academic Press.
44. Magalhães, L. G., de Souza, J. M., Wakabayashi, K. A. L., da S. Laurentiz, R., Vinhólis, A. H. C., Rezende, K. C. S., Simaro, G. V., Bastos, J. K., Rodrigues, V., Esperandim, V. R., Ferreira, D. S., Crotti, A. E. M., Cunha, W. R., & e Silva, M. L. A. (2012). In vitro efficacy of the essential oil of *Piper cubeba* L. (Piperaceae) against *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 110(5), 1747-1754.

45. Mancini, E., Arnold, N. A., Feo, V. D., Formisano, C., Rigano, D., Piozzi, F., & Senatore, F. (2009). Phytotoxic effects of essential oils of *Nepeta curviflora* Boiss. And *Nepeta nuda* L. subsp. *Albiflora* growing wild in Lebanon. *Journal of Plant Interactions*, 4(4), 253-259.
46. Meepagala, K. M., Osbrink, W., Sturtz, G., & Lax, A. (2006). Plant-derived natural products exhibiting activity against formosan subterranean termites (*Coptotermes formosanus*). *Pest Management Science*, 62(6), 565-570.
47. Mensah, P. K., Palmer, C. G., & Odume, O. N. (2015). Ecotoxicology of Glyphosate and Glyphosate-Based Herbicides—Toxicity to Wildlife and Humans. *Toxicity and Hazard of Agrochemicals*.
48. Mesquita, J. M. O., Oliveira, A. B., Braga, F. C., Lombardi, J. A., da Cunha, A. P., Salgueiro, L., & Cavaleiro, C. (2006). Essential Oil Constituents of *Piper vicosanum* Yunker from the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Essential Oil Research*, 18(4), 392-395.
49. Mgbeahuruike, E. E., Yrjönen, T., Vuorela, H., & Holm, Y. (2017). Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on Piper species. *South African Journal of Botany*, 112, 54-69.
50. Misra, N. N., Rai, D. K., & Hossain, M. (2015). Analytical techniques for bioactives from seaweed. En B. K. Tiwari & D. J. Troy (Eds.), *Seaweed Sustainability* (pp. 271-287). Academic Press.
51. Morshed, S., Hossain, Ahmad, M., & Junayed, M. (2017). Physicochemical Characteristics of Essential Oil of *Black Pepper (Piper nigrum)* Cultivated in Chittagong, Bangladesh. *Journal of Food Quality and Hazards Control*, 4, 66-69.
52. Nagana Gowda, G. A., Alvarado, L. Z., & Raftery, D. (2017). Metabolomics. En A. M. Coulston, C. J. Boushey, M. G. Ferruzzi, & L. M. Delahanty (Eds.), *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease (Fourth Edition)* (pp. 103-122). Academic Press.

53. Nahak, G., & Sahu, R. K. (2011). Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and *Piper nigrum*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(8), 153-157.
54. Nascimento, J. C. do, Paula, V. F. de, David, J. M., & David, J. P. (2012). Occurrence, biological activities and ¹³C NMR data of amides from *Piper* (Piperaceae). *Química Nova*, 35(11), 2288-2311.
55. Noriega, P. (2020). *Terpenes in Essential Oils: Bioactivity and Applications*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93792>
56. Noumedem, J. A. K., Djeussi, D. E., Hritcu, L., Mihasan, M., & Kuete, V. (2017). *Lactuca sativa*. En V. Kuete (Ed.), *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* (pp. 437-449). Academic Press.
57. Novaes, A. da S., da Silva Mota, J., Barison, A., Veber, C. L., Negrão, F. J., Kassuya, C. A. L., & de Barros, M. E. (2014). Diuretic and antilithiasic activities of ethanolic extract from *Piper amalago* (Piperaceae). *Phytomedicine*, 21(4), 523-528.
58. Ojeda D'Ugard, R. A. (2018). *Insecticidas para el control de Spodoptera frugiperda (J.E.Smith) en maíz (Zea mays L.) en La Molina* [Universidad Nacional Agraria la Molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3420>
59. Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. En R. R. Watson (Ed.), *Polyphenols in Plants (Second Edition)* (pp. 243-259). Academic Press.
60. Oyemitan, I. A. (2017). African Medicinal Spices of Genus *Piper*. En V. Kuete (Ed.), *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* (pp. 581-597). Academic Press.
61. Parmar, V. S., Jain, S. C., Bisht, K. S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O. D., Prasad, A. K., Wengel, J., Olsen, C. E., & Boll, P. M. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46(4), 597-673.

62. Parra Amin, J. E. (2011). *Contribución al estudio fitoquímico de la parte aérea de Piper cf. Cumanense Kunth (Piperaceae)* [Universidad Nacional De Colombia]. <http://bdigital.unal.edu.co/8097/1/197504.2011.pdf>
63. Paz, R. F., Guimarães, E. F., & Ramos, C. S. (2017). The occurrence of phenylpropanoids in the saps of six Piper species (Piperaceae) from Brazil. *Gayana. Botánica*, 74(1), 236-239.
64. Pérez Zamora, C. M., Torres, C. A., & Nuñez, M. B. (2018). Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. *Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 23(3).
65. Pino, M. R., Muñoz, S., Val, J., & Navarro, E. (2016). Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of *Lactuca sativa* and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(22), 22530-22541.
66. Piyatida, P., Suenaga, K., Ohno, O., & Kato-Noguchi, H. (2012). Isolation of allelopathic substance from *Piper sarmentosum* Roxb. *Allelopathy Journal*, 30(1), 93-102.
67. Powles, S. B., Lorraine-Colwill, D. F., Dellow, J. J., & Preston, C. (1998). Evolved Resistance to Glyphosate in Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia. *Weed Science*, 46(5), 604-607.
68. Prakash, B., Mishra, P. K., Kedia, A., & Dubey, N. K. (2014). Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant potential of chemically characterized *Boswellia carterii* Birdw essential oil and its in vivo practical applicability in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 240-247.
69. Quintero, J. M. J. (2020). Usos y efectos del glifosato en Colombia. *Boletín Informativo CEI*, 7(1), 145-146.
70. Razzaghi-Abyaneh, M., Yoshinari, T., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M.-B., Nagasawa, H., & Sakuda, S. (2007). Dillapiol and Apiol as Specific Inhibitors of the

- Biosynthesis of Aflatoxin G1 in *Aspergillus parasiticus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71(9), 2329-2332.
71. Reina, M., Santana, O., Domínguez, D. M., Villarroel, L., Fajardo, V., Rodríguez, M. L., & González-Coloma, A. (2012). Defensive sesquiterpenes from *Senecio candidans* and *S. magellanicus*, and their structure-activity relationships. *Chemistry & Biodiversity*, 9(3), 625-643.
72. Ríos, J.-L. (2016). Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. En V. R. Preedy (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 3-10). Academic Press.
73. Rizvi, S. J. (1992). *Allelopathy: Basic and applied aspects* (Primera Edición). Springer Science & Business Media.
74. Rojas E Silva Aizzo, J. (2013). *Variabilidade química do óleo essencial da Piper obliquum Ruiz & Pav. Da estação ecológica cuniã, porto velho-ro* [Universidade Federal de Rondônia].
75. Romagni, J., Allen, S., & Dayan, F. (2000). Allelopathic Effects of Volatile Cineoles on Two Weedy Plant Species. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 303-313.
76. Saga Kitamura, R. O., Romoff, P., Young, M. C. M., Kato, M. J., & Lago, J. H. G. (2006). Chromenes from *Peperomia serpens* (Sw.) Loudon (Piperaceae). *Phytochemistry*, 67(21), 2398-2402.
77. Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez, E., Valussi, M., Tumer, T. B., Monzote Fidalgo, L., Martorell, M., & Setzer, W. N. (2019). *Piper* Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules*, 24(7), Article 7.
78. Sauter, I. P., Rossa, G. E., Lucas, A. M., Cibulski, S. P., Roehe, P. M., da Silva, L. A. A., Rott, M. B., Vargas, R. M. F., Cassel, E., & von Poser, G. L. (2012). Chemical composition and amoebicidal activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. *Industrial Crops and Products*, 40, 292-295.

79. Scott, I. M., Jensen, H. R., Philogène, B. J. R., & Arnason, J. T. (2008). A review of Piper spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews*, 7(1), 65-75.
80. Shah, A. N., Iqbal, J., Ullah, A., Yang, G., Yousaf, M., Fahad, S., Tanveer, M., Hassan, W., Tung, S. A., Wang, L., Khan, A., & Wu, Y. (2016). Allelopathic potential of oil seed crops in production of crops: A review. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(15), 14854-14867.
81. Singh, H. P., Batish, D. R., Kaur, S., Ramezani, H., & Kohli, R. K. (2002). Comparative phytotoxicity of four monoterpenes against *Cassia occidentalis*. *Annals of Applied Biology*, 141(2), 111-116.
82. Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Scientia Chromatographica*, 2(1), 29-47.
83. Swanton, C. J., Nkoa, R., & Blackshaw, R. E. (2015). Experimental Methods for Crop–Weed Competition Studies. *Weed Science*, 63(SP1), 2-11.
84. Takeara, R., Gonçalves, R., Santos Ayres, V. F. dos, & Guimarães, A. C. (2017). Biological Properties of Essential Oils from the Piper Species of Brazil: A Review. *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature*.
85. Tarazona, J. V., Court-Marques, D., Tiramani, M., Reich, H., Pfeil, R., Istace, F., & Crivellente, F. (2017). Glyphosate toxicity and carcinogenicity: A review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Archives of Toxicology*, 91(8), 2723-2743.
86. Thin, D. B., Chinh, H. V., Luong, N. X., Hoi, T. M., Dai, D. N., & Ogunwande, I. A. (2018). Chemical Analysis of Essential Oils of *Piper laosanum* and *Piper acre* (Piperaceae) from Vietnam. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(1), 181-188.
87. Thonsoongnern, P., & Phraprasert, P. (2019). Effect of Allelopathy from *Piper betle* L. Leaves on Seed Germination, Growth, and Physiology of Mung Bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). *Burapha Science Journal (วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา)*, 24(3), 994-1005.

88. Valarezo, E., MERINO, G., CRUZ-ERAZO, C., & Cartuche, L. (2020). Study of the essential oil from native amazonian species of Ecuador *Piper lineatum*, presence of apiole and safrole. *Natural Volatiles and Essential Oils*.
89. Xiang, C.-P., Han, J.-X., Li, X.-C., Li, Y.-H., Zhang, Y., Chen, L., Qu, Y., Hao, C.-Y., Li, H.-Z., Yang, C.-R., Zhao, S.-J., & Xu, M. (2017). Chemical Composition and Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Essential Oils from *Piper* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18), 3702-3710.
90. Yu, Q., & Powles, S. (2014). Metabolism-Based Herbicide Resistance and Cross-Resistance in Crop Weeds: A Threat to Herbicide Sustainability and Global Crop Production. *Plant Physiology*, 166(3), 1106-1118.

ANEXOS

Anexo N° 1: Especies vegetales de Piper, código de exicata, parte de la planta, lugar de recolección y ubicación en Universal Transverse Mercator (UTM)

Código de exicata	Especie Vegetal	Parte de la planta	Lugar de recolección	Ubicación UTM
039849	<i>P. coruscan</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de Mazán	710990 9619525
036367	<i>P. sancti-felicis</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de Punchana	695305 9587673
041044	<i>P. casapiense</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de Mazán	711556 9623266
027690	<i>P. obliquum</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de Mazán	711396 9623398
042381	<i>P. anonifolium</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de Mazán	711399 9623398
020115	<i>P. tuberculatum</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de Mazán	710947 9619547
040311	<i>P. dumosum</i>	Hojas y tallos	Distrito de San Juan Bautista	675962 9559237
042127	<i>P. reticulatum</i>	Hojas y tallos	Distrito de San Juan Bautista	676047 9559417
033308	<i>P. soledadense</i>	Hojas, tallos y flores	Distrito de San Juan Bautista	675915 9559216
041473	<i>P. mituense</i>	Hojas y tallos	Distrito de San Juan Bautista	676010 9559392

Fuente: Centro de Investigacion de Recursos Naturales Herbarium amazonense - AMAZ

Anexo Nº 2: Constancia de identificación taxonómica de las especies vegetales del género Piper



**Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense - AMAZ**

**INSTITUCION CIENTIFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CODIGO DE AUTORTIZACION AUT-ICND-2017-005**

CONSTANCIA

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentado por **HENRRY DENNY CABALLERO CEFERINO**, Bachiller de la Escuela de Formacion Profesional de Ingeniería química, **Facultad de Ingeniería Química**, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, pertenece a la tesis titulado: **ACTIVIDAD FITOTÓXICA Y ANÁLISIS DEL PERFIL QUÍMICO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES DE ACEITES ESENCIALES DE PIPERÁCEAES, POTENCIALES HERBICIDAS NATURALES, 2020**; han sido **DETERMINADAS** en este Centro de Investigacion y Enseñanza, **Herbarium Amazonense-AMAZ**, del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP-CIRNA-UNAP, como se indica a continuación:

Codigo exsiccata	Especie Vegetal	Partes de recolección
039849	<i>Piper coruscans</i> Kunth	Hojas, tallo y flores
036367	<i>Piper sancti-felicis</i> Trel.	Hojas, tallo y flores
041044	<i>Piper casapiense</i> (Miq.) C. DC.	Hojas, tallo y flores
027690	<i>Piper obliquum</i> Ruiz & Pav.	Hojas, tallo y flores
042381	<i>Piper anonifolium</i> (Kunth) C. DC.	Hojas, tallo y flores
020115	<i>Piper tuberculatum</i> Jacq.	Hojas, tallo y flores
040311	<i>Piper dumosum</i> Rudge	Hojas y tallos
042127	<i>Piper reticulatum</i> L.	Hojas y tallos
033308	<i>Piper soledadense</i> Trel.	Hojas, tallos y flores
041473	<i>Piper mituense</i> Trel. & Yunck.	Hojas y tallos

Se expide la presente constancia al interesado, para los fines que estime conveniente.

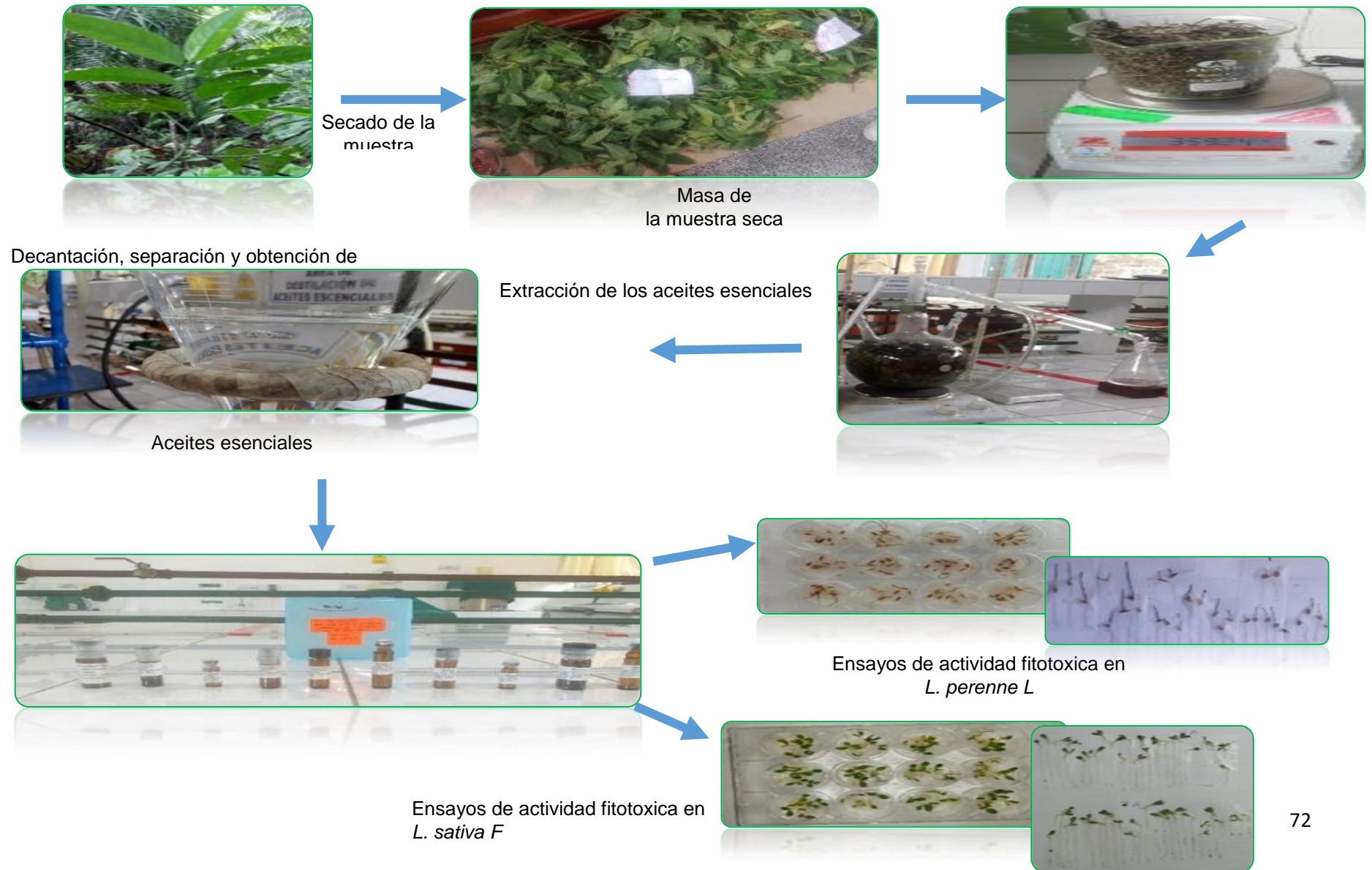
Atentamente,

Iquitos, 04 de octubre del 2021


Richard J. Huananca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo Nº 3: Procedimiento para la obtención de aceites esenciales y ensayos de actividad fitotóxica



Anexo N° 4: Metabolitos secundarios identificados por cromatografía de gases-masa en las especies de Piper con mejor actividad Fitotóxica.

N°	Compuestos	Especies en estudio				
		T. Ret.	Área %			
			<i>P. santi-felicis</i>	<i>P. casapiense</i>	<i>P. reticulatum</i>	<i>P. mituense</i>
01	α -pipeno	3,82	0,39			0,33
02	β -pineno	4,42	0,50			0,39
03	α -felandreno	4,81				0,45
04	3-careno	4,91				0,28
05	Limoneno	5,22	0,42		0,22	0,73
06	<i>Trans</i> - β -ocimeno	5,50	0,30			
07	γ -terpineno	5,74	0,69			0,50
08	Piperitone	9,85	1,23			
09	Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)	11,72				1,04
10	δ -elemeno	11,73			2,15	
11	α -cubebeno	12,00		1,05	1,16	2,80
12	Ylangeno	12,51			0,50	
13	Copaeno	12,61	0,61	0,71	4,60	1,85
14	β -bourboneno	12,82			0,72	
15	β -elemeno	12,94			2,45	2,11
16	Cariofilano	13,59	4,07	4,73	4,46	2,87
17	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropil-1-metil-3-metilenetriciclo [4.4.0.0.2.7]decano	13,79			1,90	0,22
18	(+)-Aromadendreno	14,02		1,11		
19	Isoledene	14,22			0,59	
20	α -humuleno	14,33	1,75	2,50	1,61	0,49

N°	Compuestos	Especies en estudio				
		T. Ret.	Área %			
			<i>P. santi-felicis</i>	<i>P. casapiense</i>	<i>P. reticulatum</i>	<i>P. mituense</i>
21	Nealloocimeno	14,48				0,34
22	α -amorfenol	14,78				0,19
23	Naphtaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-, (1 α ,4 α ,8 α)	14,79		0,79	4,00	
24	Germacreno-D	14,91	1,61	0,98	12,62	6,72
25	<i>Trans</i> - α -bergamoteno	15,07			4,25	1,42
26	Eicosano	15,16	1,33			
27	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetrametilbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-dieno	15,24		2,17	8,07	9,01
28	<i>E,E</i> - α -farneseno	15,36	0,44			
29	γ -cadineno	15,59		0,60	2,51	
30	Miristicina	15,67			0,97	4,59
31	Croweacin	15,68	1,91			
32	δ -cadineno	15,76	1,35	2,08	5,99	
33	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 4,10-dimethyl-7-isopropyl-bicyclo(4.4.0)-1,4-decanin	15,96			0,79	0,99
34	(4aS,8R)-4a,8-Dimethyl-4,4a,5,6,7,8-hexahydronaphtalen-2(3H)-one	16,12		1,04		
35	<i>Cis</i> -isoelemicina	16,33	0,36			0,78
36	Germacreno B	16,52			1,37	
37	Nerolidol	16,53	0,60			
38	γ -elemeno	16,52				0,55
39	Espatuleno	16,93			0,94	0,65
40	Óxido de cariofileno	17,06	1,87	10,18	1,16	
41	(-)-globulol	17,07				0,37

N°	Compuestos	Especies en estudio				
		T. Ret.	Área %			
			<i>P. santi-felicis</i>	<i>P. casapiense</i>	<i>P. reticulatum</i>	<i>P. mituense</i>
42	Viridiflorol	17,25	1,10			
43	Guaiol	17,31		2,88	0,85	
44	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]-dodeca-3,7-diene	17,59	0,81	3,80		
45	4a(2H)-Naphthalenol, 1,3,4,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-(1S,4R,4aS,8aR)	17,67			0,67	
46	Apiol	17,87	76,08		14,99	51,58
47	4a(2H)-Naptalenol, 1,3,4,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S,4R,4aS,8aR)	18,24	0,90			
48	δ -cadinol= torreyol	18,28			1,27	
49	No identificado	19,49		17,01		

N°	Compuestos	Especies en estudio				
		T. Ret.	Área %			
			<i>P. santi-felicis</i>	<i>P. casapiense</i>	<i>P. reticulatum</i>	<i>P. mituense</i>
50	No identificado	21,13		22,64		
51	No identificado	21,55		5,43		

Leyenda: T. ret: tiempo de retención.

Anexo Nº 5: Constancia de análisis de muestras de aceites esenciales de las especies de Piper por cromatografía de gases acoplado a masas.



**INSTITUTO DE CIENCIAS AGRARIAS DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
(ICA-CSIC)**

**INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE ACEITES ESENCIALES POR GROMATOGRAFÍA DE GASES
ACOPLADO A MASAS**

Solicitante: Liliانا Ruíz Vásquez

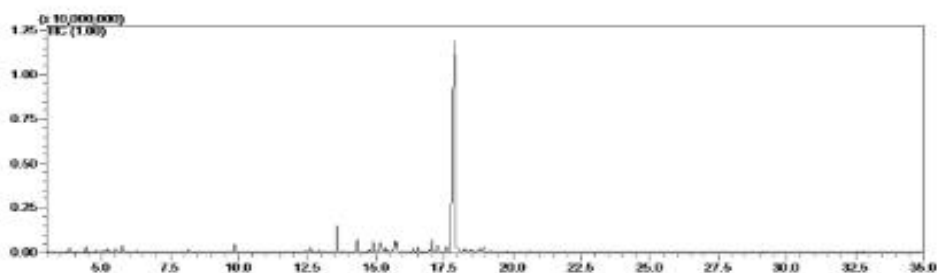
Muestras: cuatro (04) de aceites esenciales con códigos 2A, 5A, 10A y 12A

Análisis: composición química de 3 aceites esenciales por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Fecha de entrega de resultados: 15 junio del 2021

Piper santi-felicis 2A			
Ret. Time	% Area	Compuestos	Espectro
3.82	0.39	α -pipene	
4.42	0.50	β -pinene	
5.22	0.42	Limonene	
5.50	0.30	Trans- β -ocimene	
5.74	0.69	γ -Terpinene	
9.85	1.23	piperitone	
12.61	0.61	Copaene	
13.59	4.07	Caryophyllene	
14.33	1.75	α -humulene	
14.91	1.61	Germacrene-D	
15.16	1.33	Eicosane	
15.36	0.44	E,E-alpha-farnesene	
15.68	1.91	Croweacin	
15.76	1.35	δ -cadinene	
16.33	0.36	Cis-isoelemicin	
16.53	0.60	Nerolidol	
17.06	1.87	Caryophyllene oxide	
17.25	1.10	viridiflorol	
17.59	0.81	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	
17.87	76.08	Apiol	
18.24	0.90	4a(2H)-Naphthalenol, 1,3,4,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S,4R,4aS,8aR)-	
18.49	0.29	No identificado	95/81/121/43/109/93/161/204/67/105
18.79	0.30	No identificado	203/144/204/218/115/86/145/143/187/116
18.92	0.71	No identificado	222/149/177/206/121/191/91/77/223/133

CROMATOGRAMA

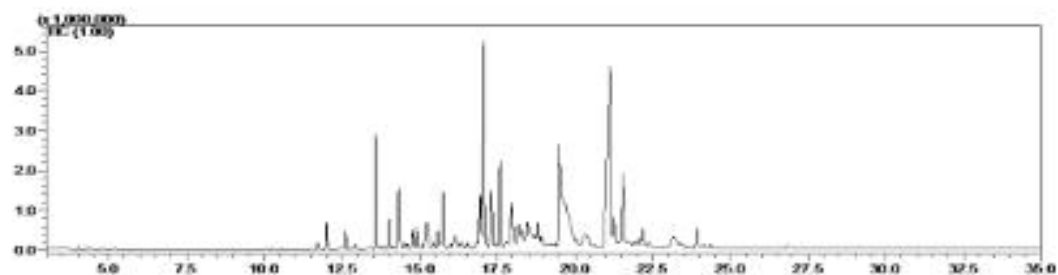


Serrano 115 dup., 28006 Madrid (España) Tel.: +34 91 745 25 00 Fax: +34 91 564 08 00

<i>Piper casapiense</i> SA			
Ret. Time	% Area	Compuestos	Espectro
12.00	1.05	α -Cubebene	
12.61	0.71	Copaene	
12.91	0.32	Germacrene-D	
13.59	4.73	Caryophyllene	
14.02	1.11	(+)-aromadendrene	
14.33	2.50	Alpha-humulene	
14.78	0.70	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)- (CAS) .gamma.	
14.91	0.98	Germacrene-D	
15.23	2.17	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	
15.59	0.60	γ -Cadinene	
15.76	2.08	δ -cadinene	
16.12	1.04	(4aS,8R)-4a,8-Dimethyl-4,4a,5,6,7,8-hexahydronaphthalen-2(3H)-one	
16.94	2.57	Spathulenol	91/119/205/105/93/43/159/107/147/79
17.06	10.18	Caryophyllene oxide	
17.32	2.88	Guaiol	
17.59	3.80	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	
17.96	2.05	Bicyclo[5.2.0]nonane, 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl-	91/93/105/79/119/133/107/77/81/147
18.02	0.62	No identificado	159/202/59/105/187/145/131/91/160/119
18.19	1.55	No identificado	161/95/105/204/121/91/162/43/79/81
18.30	1.07	No identificado	105/93/91/161/119/79/133/159/81/77
18.46	1.63	No identificado	95/121/161/204/43/109/105/81/164/108
18.55	1.77	No identificado	93/80/91/133/92/84/157/121/136/77
18.72	0.63	No identificado	107/157/135/105/93/59/161/119/91/189
18.81	1.17	No identificado	159/147/105/187/162/119/91/174/59/202
19.49	17.01	No identificado	93/91/79/133/105/119/107/189/81/67
20.31	1.91	No identificado	93/119/79/91/80/94/105/92/121/95
21.13	22.64	No identificado	93/133/91/105/79/107/119/77/106/121
21.25	1.55	No identificado	93/91/43/133/105/79/119/107/131/67
21.55	5.43	No identificado	93/133/91/105/79/107/119/77/106/121
22.17	0.84	No identificado	126/108/95/109/122/107/67/69/81/93

23.18	1.61	No identificado	79/93/43/91/105/81/67/95/107/41
23.92	1.09	No identificado	79/93/43/91/105/81/67/95/107/41

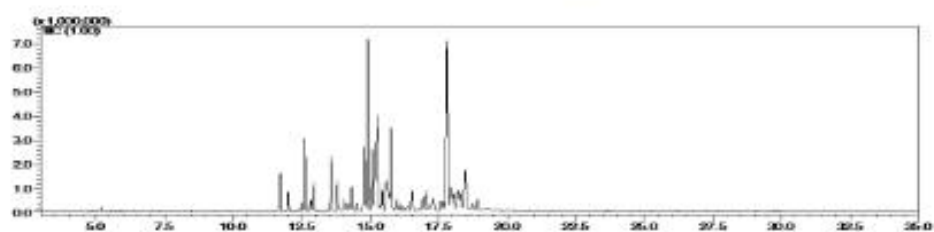
CROMATOGRAMA



<i>Piper reticulatum</i> 10A			
Ret. Time	% Area	Compuestos	Espectro
5.22	0.22	Limonene	
11.73	2.15	δ -Elemene	
12.00	1.16	α -Cubebene	
12.51	0.50	Ylangene	
12.61	4.60	Copaene	
12.82	0.72	β -bourbonene	
12.94	2.45	β -elemene	
13.59	4.46	Caryophyllene	
13.79	1.90	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]decane-rel-	
14.06	0.54	(1R,3aS,8aS)-7-Isopropyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3a,6,8a-hexahydroazulene	
14.22	0.59	Isoledene	
14.32	1.61	α -humulene	
14.52	0.65	cis-Muurolo-4(15),5-diene	
14.79	4.00	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)- (CAS) ,gamma.	
14.92	12.62	Germacrene-D	
15.07	4.25	Trans- α -Bergamotene	
15.18	3.06	No identificado	161/105/119/120/91/207/133/81/92/204
15.24	8.07	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	
15.43	1.17	Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-{+/-}-	
15.59	2.51	γ -Cadinene	
15.63	1.01	No identificado	207/43/95/123/109/121/137/81/105/108
15.69	0.97	Myristicin	
15.76	5.99	δ -cadinene	
15.96	0.79	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 4,10-dimethyl-7-isopropyl-bicyclo(4.4.0)-1,4-decadien	
16.07	0.35	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]-	
16.52	1.37	Germacrene B (CAS) 1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	
16.93	0.94	Spathulenol	
17.05	1.16	Caryophyllene oxide	
17.21	0.77	No identificado	107/135/93/91/204/105/43/41/79/77
17.31	0.85	Guaiol	

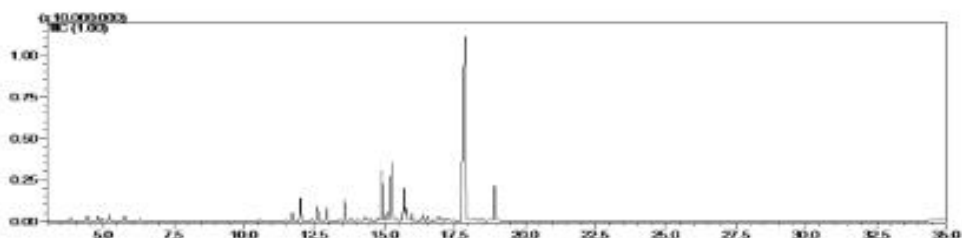
17.67	0.67	4a(2H)-Naphthalenol, 1,3,4,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S,4R,4aS,8aR)-	
17.80	14.99	Apiol	
17.94	2.59	No identificado	119/105/159/131/97/91/93/95/79/109
18.03	1.36	No identificado	161/179/105/204/189/95/81/109/133/119
18.20	2.10	τ -Cadinol	
18.28	1.27	MUUROLOL<ALPHA-> DB5-1984 (= TORREYOL, = DELTA CADINOL)	
18.42	0.87	No identificado	59/149/82/123/108/67/68/122/164/91
18.46	3.63	τ -Muurolol	
18.91	0.74	No identificado	222/149/177/207/121/91/191/77/223/133

CROMATOGRAMA



<i>Piper mituense</i> 12A			
Ret. Time	% Area	Compuestos	
3.82	0.33	α -pipene	
4.42	0.39	β -pinene	
4.81	0.45	α -phellandrene	
4.91	0.28	3-Carene	
5.21	0.73	Limonene	
5.74	0.50	γ -Terpinene	
10.54	0.20	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	
11.72	1.04	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)	
12.00	2.80	α -Cubebene	
12.51	1.85	Copaene	
12.94	2.11	β -Elemene	
13.59	2.87	Caryophyllene	
13.78	0.22	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]decane	
14.32	0.49	α -humulene	
14.48	0.34	Nealloocimene	
14.78	0.19	α -amorphene	
14.91	6.72	Germacrene-D	
15.07	1.42	Trans- α -Bergamotene	
15.24	9.01	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethylbicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	
15.67	4.59	Myristicin	
15.76	1.94	No identificado	159/161/105/119/134/204/81/91/162/133
15.96	0.99	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 4,10-dimethyl-7-isopropyl-bicyclo(4.4.0)-1,4-decadien	
16.33	0.78	Cis-isoelemicin	
16.52	0.55	γ -elemene	
16.93	0.65	Spathulenol	
17.07	0.37	(-)-Globulol	
17.85	51.58	Apiol	
18.22	0.84	τ -Muurolol	
18.49	0.52	Neointermedeol	
18.91	5.26	Apiol	

CROMATOGRAMA



METODOLOGÍA

Cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS)

Para la determinación cualitativa y cuantitativa de los compuestos presentes en los aceites esenciales y fracciones volátiles se utiliza como metodología la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS), utilizando un equipo Shimadzu GC-2010 acoplado a un detector de masas Shimadzu GCMS-QP2010-Ultra con una fuente ionización por impacto electrónico a 70 eV y utilizando un analizador Cuadrupolo Simple. Se utilizó Helio como gas portador. Las muestras fueron inyectadas por un inyector automático (AOC-20i). La cromatografía se llevó a cabo con una columna capilar Teknokroma TRB-5 (95% Dimetil- (5%) diphenylpolisiloxane, 30 m x 0,25 mm ID y 0.25 μ m de espesor de fase. Las condiciones de trabajo utilizadas han sido: inyección en modo Split inyectando 1 μ l con una relación de división (20:1) mediante un inyector automático Shimadzu AOC-20i, temperatura del inyector 300°C, temperatura de la línea de transferencia conectada al espectrómetro de masas 250°C y temperatura de la fuente de ionización 220°C. La temperatura de la columna inicial fue de 70°C, calentando hasta 290°C a 6°C /min y dejando a 290°C durante 15 min. Los espectros de masas y el tiempo de retención han sido utilizados para identificar los compuestos por comparación con los encontrados en la base de datos Wiley (Wiley 275 Mass Spectra Database, 2001) Y NIST, mientras que para la cuantificación se han utilizado los % de área relativos de todos los picos obtenidos en los cromatogramas. Todas las muestras fueron disueltas en 100% DCM a una concentración de 1 μ g/ μ l, para llevar a cabo su inyección.

GONZALEZ
COLOMA ANA
AZUCENA - DNI
05366065G

Firmado digitalmente por
GONZALEZ COLOMA ANA
AZUCENA - DNI
05366065G
Fecha: 2021.12.03
13:50:24 +01'00'