

Efecto de extractos de *Ulex europaeus* L. en la producción de biomasa de plántulas de ají (*Capsicum annuum* L.), en condiciones de laboratorio

Effect of extracts of *Ulex europaeus* L. on the biomass production in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings, under laboratory conditions

Ricardo Tighe-Neira^{1*}, Ramiro Díaz-Harris², Gina Leonelli-Cantergiani¹,
Carla Iglesias-González¹, María Martínez-Gutiérrez¹,
Daniza Morales-Ulloa¹ y Patricia Mejías-Lagos²

RESUMEN

Se evaluaron extractos de la fracción aérea y radicular de *Ulex europaeus* L., obtenidos mediante extracción acuosa y metanólica aplicados a plántulas de ají (*Capsicum annuum* L.) en condiciones de laboratorio. Los tratamientos fueron seis dosis (0, 20, 40, 80, 160 y 320 mg kg⁻¹) de raíz acuosa (Ra), raíz metanólica (Rm), parte aérea acuosa (Ha) y parte aérea metanólica (Hm), y como testigos caféina (C) y agua destilada (A), con seis repeticiones. Su efecto se evaluó en la producción de materia verde (MV) y en materia seca (MS) de plántulas de *C. annuum*. El extracto Ra obtuvo el valor más alto en producción de MS (g), mientras que en contenido de MV (g) ambos extractos presentaron mayor rendimiento que el testigo. Por otro lado, las dosis más altas del extracto Ra obtuvieron los mejores resultados en MV y en MS. Todas las dosis presentaron mejores resultados que el testigo; en tanto Rm concentró los valores más altos de producción en dosis bajas. En cuanto a los extractos de parte aérea se observó que ambos tuvieron efectos sobre la producción de MV y MS, siendo significativamente mayor al testigo. En cuanto a las dosis, 80 y 160 mg kg⁻¹ obtuvieron los mejores resultados en MV. En dosis altas del extracto Hm se observó un incremento de la MV respecto al testigo, no así de la MS. Finalmente, es posible afirmar que es factible utilizar extractos de *U. europaeus* para incrementar la producción de MV y MS en *C. annuum*.

Palabras clave: raíz, parte aérea, materia verde, materia seca.

ABSTRACT

Under laboratory conditions, aerial and root extracts of Ulex europaeus L., obtained by methanol and aqueous extraction, used in chili pepper (Capsicum annuum L. cv) seedlings, were assessed. The treatments used were 6 doses (0, 20, 40, 80, 160 and 320 mg kg⁻¹) of each type of extract: aqueous root (Ra), methanol root (Rm), aqueous aerial (Ha) and methanol aerial (Hm), and caffeine (C) and distilled water (A) as controls; with 6 replications. The effect of the extracts on the production of green matter (GM) and dry matter (DM) of C. annuum seedlings was assessed. The Ra extract obtained the highest rate in DM production (g), while in GM content (g) both extracts showed a higher yield compared to control. On the other hand, the highest Ra extract doses obtained the best results in GM and DM. All doses showed better results than controls; Rm showed the highest yield rates with the lowest doses. Regarding aerial extracts, it was observed that both had effects on GM and DM production, being significant higher than controls. 80 and 160 mg kg⁻¹ doses showed the best results in GM. In high doses of Hm extract, an increase in GM was observed compared to control; but in DM, it was not. Therefore, feasibility of using U. europaeus extracts to increase GM and DM production in C. annuum can be ensured.

Key words: root, aerial extracts, green matter, dry matter.

¹ Escuela de Agronomía, Universidad Católica de Temuco, Chile.

² Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Católica de Temuco, Chile.

* Autor para correspondencia: rtighe@uct.cl

Fecha de Recepción: 6 Julio, 2015.

Fecha de Aceptación: 1 Agosto, 2016.

DOI: 10.4067/S0718-34292016005000022

Introducción

En los últimos años se han realizado estudios de extractos vegetales de diversas especies de plantas para inducir múltiples respuestas de defensa (Baque *et al.*, 2012). Existen reportes que dan cuenta de sus potenciales aplicaciones contra varios patógenos (Medeiros *et al.*, 2009) o como insecticida (Nenaah, 2011). Estos bioproductos contienen principios activos del tipo glucósidos, cianogénicos, glucosinolatos, alcaloides y terpenos que, dependiendo del contexto, pueden ser tóxicos, actuando como repelentes o antinutritivos (Mithöfer y Boland, 2012).

Los extractos vegetales son utilizados, además, como complemento nutricional de los cultivos, dado que favorecerían su desarrollo, así como también producirían mejoras en el rendimiento y calidad del producto (Fregoni, 1986). Pueden ser aplicados como bioestimulantes y/o fitoprotectores, incrementando la longitud y el peso fresco de las hojas; este es el caso de extractos de algas marinas (Araújo *et al.*, 2012), o de vegetales de distintas especies de plantas medicinales indias (Muthukumar *et al.*, 2010).

Debido a lo anterior, surge la inquietud de indagar sobre los potenciales usos de nuevas especies vegetales, como *Ulex europaeus* L. Esta leguminosa originaria del centro de Europa (Kaufman, 2012), constituye un recurso abundante en Chile desde que fue introducida a principios del siglo pasado. Invade áreas de aptitud agropecuaria y forestal entre los paralelos 37 y 43 grados de latitud Sur (Osorio y Cerda, 1984), y aún no se reconoce un uso comercial. Sin embargo, se ha demostrado que esta especie posee características de interés al contener productos químicos defensivos, especialmente alcaloides como anagrina, citisina, N-metilcitisina y lupanina (Máximo *et al.*, 2006; Hornoy *et al.*, 2012). Poseen además macronutrientes primarios (Howe *et al.*, 1988) que pueden generar efectos positivos en el crecimiento y desarrollo de vegetales. Este tipo de efecto se ha reportado con el uso de extractos acuosos de *U. europaeus* en la concentración de la producción de biomasa y de polifenoles en *Capsicum annuum* L., mejorando su calidad funcional (Tighe *et al.*, 2014).

En este artículo se presenta un estudio del efecto de extractos acuosos y metanólicos de raíz y parte aérea de *U. europaeus* sobre la producción de materia verde y seca en plántulas *C. annuum*, a nivel de laboratorio.

Materiales y Métodos

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales de la Escuela de Agronomía y los extractos fueron obtenidos en el Laboratorio de Química de Productos Naturales de la Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Católica de Temuco, Región de La Araucanía, Chile.

Se evaluaron extractos de la fracción aérea y radicular de *U. europaeus* obtenidos mediante extracción acuosa y metanólica. Los extractos acuosos fueron obtenidos por infusión del material vegetal molido (0,5-1 mm) en una relación sólido/solventes de 1/10, con agua destilada estéril a 90-95 °C, por 15 minutos. Se filtró la mezcla y el procedimiento fue repetido dos veces más con el mismo material vegetal. Los extractos metanólicos se obtuvieron por maceración del material vegetal en metanol en la misma relación anterior, cambiando el solvente cada 48 horas, repitiendo el procedimiento dos veces más. Los macerados fueron filtrados y se evaporó el metanol a sequedad en rotavapor. El residuo pastoso obtenido fue redisolto en agua destilada estéril. La concentración de cada extracto fue determinada como sólidos disueltos mediante evaporación controlada del solvente y expresada en mg kg⁻¹.

A cada extracto obtenido se aplicaron pruebas fitoquímicas, cualitativas específicas para cuatro tipos de metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas (Akinjogunla 2010; Upadhyay and Kumar 2010).

Los alcaloides se reconocieron con reactivo de Dragendorff en ensayos a la gota en placa de tinción y mediante TLC sobre placas de Sílica Gel y bajo luz UV-365 nm. Coloración anaranjada con el reactivo y fluorescencia bajo luz UV-365 nm indica la presencia de alcaloides. Los flavonoides se reconocieron por reacción con Mg metálico en medio ácido. Cambio de coloración indica la presencia de flavonoides. Los taninos se identificaron con solución de FeCl₃ al 10%, donde coloración azul o verde indica posible presencia de taninos, la que se confirma con solución de gelatina y gelatina-sal. La presencia de saponinas fue evidenciada por ensayo de la espuma, y se confirma con reactivo Vainillina-ácido sulfúrico, donde coloración azul detecta su presencia.

En el experimento se estudiaron dos factores: tipo de extracto y dosis. Los extractos fueron aplicados en cinco dosis a las semillas de *C. annuum* para evaluar su efecto en las plántulas de esta especie. Los

tratamientos fueron seis dosis 0 - 20 - 40 - 80 - 160 - 320 mg kg⁻¹ identificados como: raíz metanólico (Rm), raíz acuoso (Ra), parte aérea metanólico (Hm), parte aérea acuoso (Ha), cafeína (C) y agua destilada (A) con seis repeticiones. La cafeína y el agua destilada se utilizaron como testigos para establecer puntos de comparación extremos.

Se evaluó la producción de biomasa de las plántulas de *C. annuum* en gramos (g) de materia verde (MV) y materia seca (MS). Para ello se utilizaron frascos de vidrio de 215 mL con tres círculos de papel filtro N° 1 en el fondo de cada contenedor. Los materiales utilizados se esterilizaron previamente en autoclave vertical (Speedy modelo N° HL-340 de 50 L) a 121 °C por 20 min, posteriormente se secaron en una estufa (Binder FD, 5-300 °C) a 100 °C por 8 h. Las semillas fueron desinfectadas con un fungicida en polvo mojabable (Captan) en dosis de 5 g L⁻¹ en un agitador magnético (Optizen modelo, Optizen Pop) durante 30 min; posteriormente se lavaron con agua destilada y permanecieron en ella por 24 h a 4 °C.

Se colocaron 50 semillas de sobre los círculos de papel filtro y se agregaron los tratamientos en un volumen total, por unidad experimental, de 2 mL de solución. Luego se sellaron con un film plástico y permanecieron en una cámara de crecimiento por 14 días, según norma ISTA, a 24 ± 2 °C y 3.000 lux con un fotoperíodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad. A cada frasco se le adicionaron 2 mL de agua destilada cada cuatro días. Una vez finalizado el período de evaluación, la producción de biomasa de cada frasco se pesó (MV) en una balanza analítica (Radwag modelo, AS 220/C/2), y posteriormente se colocó dentro de bolsas de papel en una estufa de secado con aire forzado (Binder FD, 5-300 °C) a 60 °C por 24 h; finalmente, se pesó el material obteniendo la MS.

El diseño experimental fue de bloques completamente al azar, como producto del arreglo factorial 5 (extractos) x 6 (dosis) x 6 (repeticiones) + 6 (agua destilada), tanto para la fracción aérea como para la radicular. Los datos fueron analizados por medio de un ANDEVA y prueba de comparación múltiple Tukey con un 5% de significancia. Para ello se utilizó el paquete estadístico JMP 5.0®.

Resultados y Discusión

No existió interacción entre los factores, por lo que el análisis estadístico se realizó considerando

el efecto de los factores principales (extractos y dosis).

Estudio fitoquímico

En la Tabla 1 se observa que los extractos acuosos no mostraron evidencia de alcaloides probablemente debido a que en el método de extracción se trabajó a pH cercano a neutro. Estos metabolitos, al ser compuestos nitrogenados básicos, se encuentran en las plantas en forma de sales de ácidos orgánicos, cuya solubilidad en agua se favorece a pH bajos. En los extractos metanólicos, el metanol extrae todo tipo de metabolitos, incluyendo alcaloides, pero al redisolver el residuo obtenido en agua a pH neutro, los alcaloides no se disolvieron. Esto explicaría la no detección de alcaloides en ambos tipos extractos. En *U. europaeus* se han reportado principalmente los alcaloides quinolizidínicos N-metilcitisina, citisina y anagrina (Máximo y Lourenco, 2006), que son metabolitos secundarios característicos de las fabáceas (Wink, 1993), y sirven como un mecanismo de defensa química contra herbívoros, insectos y microorganismos, además tienen un papel en interrelaciones alelopáticas (Máximo y Lourenco, 2000).

El género *Ulex* es rico en flavonoides, particularmente isoflavonas y pterocarpanos (Máximo *et al.*, 2002). La mayor abundancia se encontró en la parte aérea, debido a que estos metabolitos sirven como defensa contra agentes oxidantes, como luz UV o elementos ambientales, donde las flores y otras partes aéreas están más expuestas. En el caso de taninos, se evidenció presencia en todos los extractos. Estos metabolitos secundarios son derivados fenólicos polares, por lo tanto solubles en agua. Su mayor concentración en partes aéreas se debe a que cumplen funciones de defensa contra herbívoros.

Las saponinas, que son un grupo de glucósidos oleosos, solubles en agua y metanol, no se encontraron en el extracto acuoso de raíz, probablemente debido a que se encuentran en baja concentración.

Extracto acuoso y metanólico de raíz

Como se puede observar en la Figura 1A, la mayor producción de MV se obtuvo con ambos extractos ($p \leq 0,05$) pero sin diferencias significativas entre ellos; por el contrario, en la producción de MS (Figura 1B) destaca el extracto acuoso ($p \leq 0,05$)

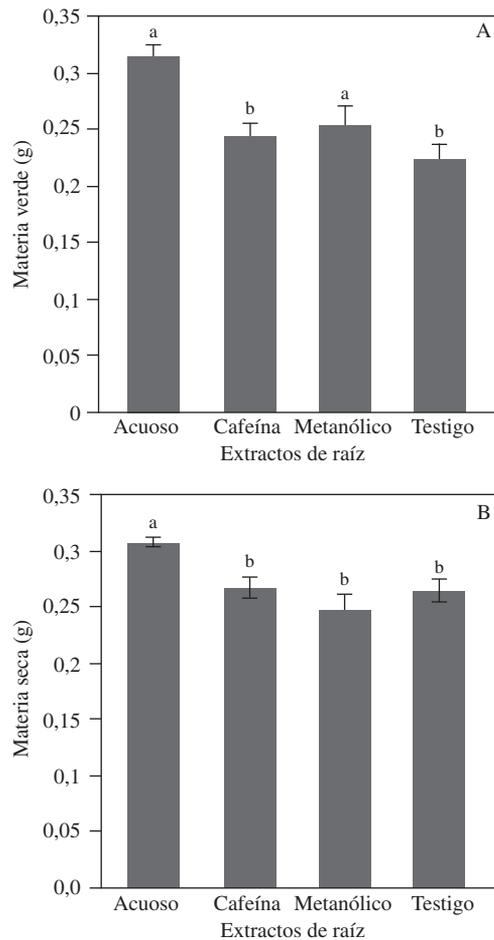


Figura 1. Efecto del extracto de raíz de *U. europaeus*, sobre la producción de biomasa en plántulas de *C. annuum*. A) MV, B) MS. Letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

sobre los tratamientos. Por lo que los extractos de *U. europaeus* generan efectos en la producción de biomasa en (Tighe *et al.*, 2014), afectando positivamente el peso seco de las plantas como las Solanaceae (Adler y Chase, 2007).

Estos resultados se deben a que las concentraciones utilizadas en este estudio fueron bajas, por lo que tuvieron un efecto estimulador sobre la producción de MV y MS, como lo menciona Cedergreen (2008), quien señala que dosis bajas de algunas sustancias como alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas, pueden inducir una estimulación en la producción de biomasa. Sin embargo, es importante destacar que los efectos de los extractos acuosos varían según la especie y la concentración del extracto (Hill *et al.*, 2006), al igual que su acumulación.

Por otra parte, las dosis del extracto acuoso presentaron diferencias ($p \leq 0,05$) respecto del testigo (Figura 2A y 2B). Se observa que a medida que aumentan las dosis de los extractos acuosos de raíz también lo hace la producción de MV y MS, esta última menos evidente; sin embargo, concuerda con lo señalado por Tighe *et al.* (2014), quienes afirman que extractos acuosos de *U. europaeus* producen efectos favorables en el peso seco en plantas *C. annuum*.

El comportamiento de las variables frente a las dosis del extracto metanólico (Figura 2A y 2B) es inverso, dado que en las más altas el efecto en la producción es significativamente menor ($p \leq 0,05$). Lo anterior podría ser consecuencia de efectos inhibitorios, debido a la presencia de sustancias

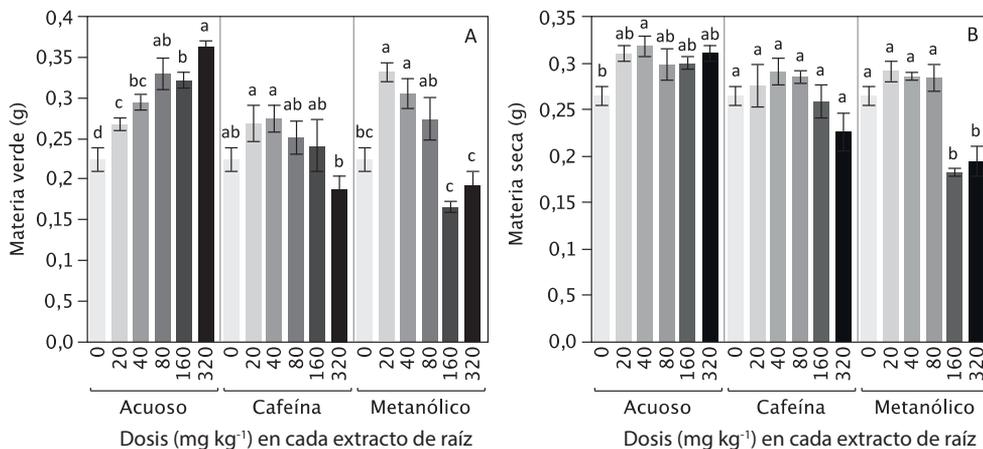


Figura 2. Efecto de las dosis del extracto de raíz de *U. europaeus* sobre la producción de biomasa en plántulas de *C. annuum*. A) MV y B) MS. Letras distintas indican diferencias estadísticas para las dosis de cada extracto según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

alelopáticas (Gouveia *et al.*, 2012) y algunos metabolitos secundarios (Sepúlveda *et al.*, 2003).

En cafeína la tendencia es similar al presentado por el extracto metanólico, con diferencias ($p \leq 0,05$) en MV. Estos resultados son esperables puesto que el extracto en metanol contiene una mayor cantidad y concentración de metabolitos, lo que posiblemente en las dosis mayores hayan generado toxicidad y no solamente estrés.

Por lo tanto, los resultados asociados a los extractos acuosos sugieren la presencia de metabolitos que contribuyen a la producción, y ausencia o baja concentración de aquellos que producen disminución de la misma. Mientras que los extractos metanólicos estarían constituidos por mayor concentración de metabolitos tóxicos, que en dosis bajas producen un efecto estimulador, en concentraciones elevadas el efecto contrario (Máximo y Lourenco, 2000).

Extracto acuoso y metanólico de la parte aérea

En la parte aérea (Figura 3A y 3B), tanto para MV como para MS los mejores resultados se encontraron en ambos extractos. Por lo que los extractos de raíz como de la parte aérea, podrían ser utilizados como potenciales estimulantes de la producción vegetal al producir un incremento en la producción de MV y MS; como lo señalan Balakumbahan y Rajamani (2010), quienes indican que los extractos de hoja del género *Moringa* también aumentan la producción de MS en comparación con el control. Ello debido a que estos productos al contener sustancias

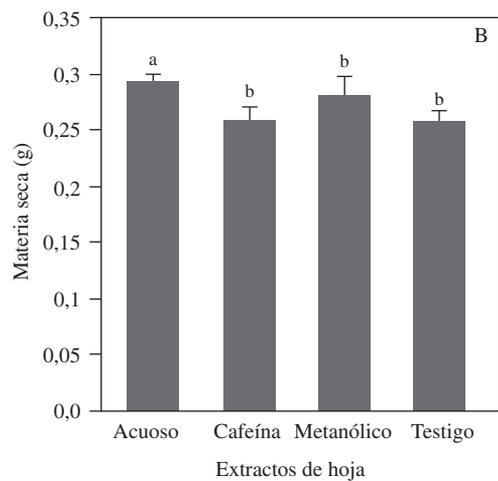
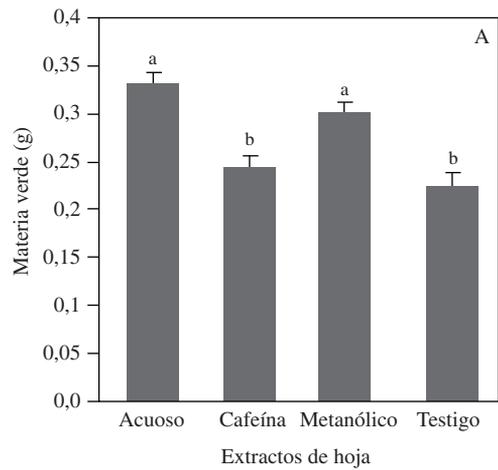


Figura 3. Efecto del extracto de la parte aérea de *U. europaeus*, sobre la producción de biomasa en plántulas de *C. annuum*. A) MV, B) MS. Letras distintas indican diferencias estadísticas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

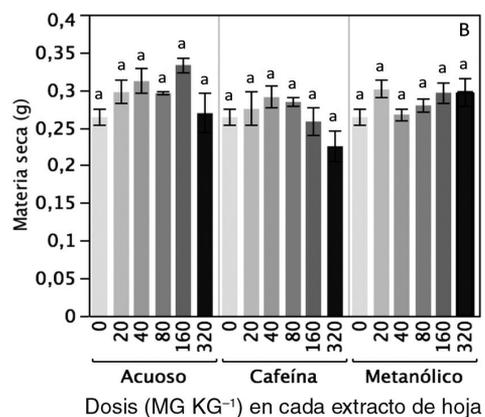
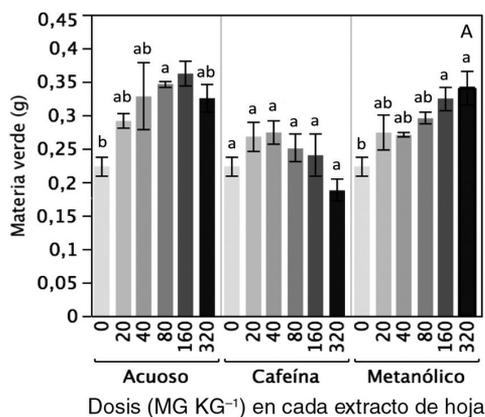


Figura 4. Efecto de las dosis del extracto de la parte aérea de *U. europaeus* sobre la producción de biomasa en plántulas de *C. annuum*. A) MV, B) MS. Letras distintas indican diferencias estadísticas para dosis de cada extracto según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabla 1. Resultado del estudio fitoquímico en extractos de *Ulex europaeus* L.

Metabolito	Alcaloide	Flavonoide	Tanino	Saponina
Extracto				
Raíz acuoso	(-)	(-)	(+)	(-)
Parte aérea acuoso	(-)	(+)	(+)	(+)
Raíz metanólico	(-)	(-)	(+) azulado	(+)
Parte aérea metanólico	(+)	(+)	(++) verdoso	(+)

(-): Ensayo negativo, sin evidencia.

(+): Ensayo positivo, con evidencia.

(+)(+): Ensayo positivo con evidencia absoluta.

biológicamente activas, como enzimas, macro y microelementos y otros compuestos, estimulan el crecimiento y desarrollo de plantas (Glinicki *et al.*, 2010). Esta mayor producción puede estar asociada a la presencia de flavonoides, taninos y saponinas en bajas concentraciones.

En cuanto a las dosis del extracto de la parte aérea (Figura 4A y 4B) se observó un efecto similar al de raíz, ya que en el de tipo acuoso se aprecia un incremento de la MV conforme se incrementan las dosis, y en MS no existen diferencias significativas ($p > 0,05$). En el caso del extracto metanólico la tendencia es la misma en ambas variables, pero en dirección opuesta a lo observado en el extracto de raíz. Se aprecia que en la mayor dosis del extracto metanólico la MV presenta los valores más altos con respecto al testigo. Lo que se relaciona con estudios realizados por Przybylaka *et al.* (2005) sobre uso de extractos vegetales de lupino en pimientos (*Capsicum annuum* L.) registrando un aumento

de la producción en todas las dosis utilizadas (80, 320 y 1.600 mg maset⁻¹). Lo anterior puede tener respuesta en la baja concentración de compuestos como alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas.

Glinicki *et al.* (2010) destacan la importancia del desarrollo de estimuladores naturales del crecimiento, desarrollados a partir de vegetales, como biofertilizantes, biopreparados, bioestimuladores o fitoestimuladores y que además sean inofensivos para los seres humanos y el medio ambiente.

Conclusiones

Es factible utilizar extractos de *Ulex europaeus* L. para incrementar la producción de materia verde y seca en *Capsicum annuum* L., especialmente en los de tipo acuoso de raíz en dosis de 160-320 y 40 mg kg⁻¹, respectivamente; y metanólico de la parte aérea en dosis de 320 mg kg⁻¹ para estimular la producción de materia verde.

Literatura Citada

- Adler, M.; Chase, C.
2007. Comparison of the allelopathic potential of leguminous summer cover crops: Cowpea, Sunn Hemp, and Velvet bean. *HortScience*, 42 (2): 289-293.
- Araújo, I.; Peruch, L.; Stadnik, M.
2012. Efeito do extrato de algas e da argila silicatada na severidade da alternariose e na Produtividade da cebolinha comum (*Allium fistulosum* L.). *Tropical Plant Pathology*, 37: 363-367.
- Akinjogunla, O.; Eghafona, N.; Enabulele, I.; Mboti C.; Ogbemudia F.
2010. Antibacterial activity of ethanolic extracts of *Phyllanthus amarus* against extended spectrum b-lactamase producing *Escherichia coli* isolated from stool samples of HIV seropositive patients with or without diarrhea. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4 (6): 402-407.
- Balakumbahan, R.; Rajamani, K.
2010. Effect of bio stimulants on growth and yield of senna (*Cassia angustifolia* var. KKM.1). *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 2 (1): 16-18.
- Baque, A.; Sang-Hyun M.; Eun-Jung L.; Jian-Zhong J.; Kee-Yoeup P.
2012. Production of biomass and useful compounds from adventitious roots of high-value added medicinal plants using bioreactor. *Biotechnology Advances*, 30: 1255-1267.
- Cedergreen, N.
2008. Herbicides can stimulate plant growth. *Weed Research*, 48: 429-438.
- Fregoni, M.
1986. Some aspects of epigeal nutrition of grapevines. In: First International Symposium of Foliar Fertilization by Schering Agrochemical Division. Alexander, A. (Ed.). Berlin, Alemania. 205-211 pp.

- Glinick, R.; Sas-Paszt, L.; Jadczyk-Tobjasz, E.
2010. The effect of plant stimulat/fertilizer "Resistim" on growth and development of strawberry plants. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 18 (1): 111-124.
- Gouveia, T.; Gomes, A.; Wessjohann, L.; Kuster, R.
2012. Phytochemical and allelopathic studies of *Terminalia catappa* L. (Combretaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 41: 119-125.
- Hill, E.; Ngouajio, M.; Nair, M.;
2006. Differential response of weeds and vegetable crops to aqueous extracts of hairy vetch and cowpea. *HortScience*, 41: 695-700.
- Howe, J.; Barry, T.; Popay, A.
1988. Voluntary intake and digestion of gorse (*Ulex europaeus* L.) by goats and sheep. *United Kingdom. J. Agric. Sci.*, 111: 107-114.
- Hornoy, B.; Atlan, A.; Tarayre, M.; Dugravot, S.; Wink, M.
2012. Alkaloid concentration of the invasive plant species *Ulex europaeus* L. in relation to geographic origin and herbivory. *Naturwissenschaften*, 99: 883-892.
- Kaufman, S.
2012. Guide to Identification and the impacts and control of North American species Sylvan. Editorial Stackpole Books. EE.UU., 517 p.
- Máximo, P.; Lourenco, A.
2000. New Quinolizidine Alkaloids from *Ulex jussiaei*. *J. Natural Products*, 2: 201-204.
- Máximo, P.; Lourenco, A.
2006. Chemotaxonomy of Portuguese *Ulex*: quinolizidine alkaloids as taxonomical markers. *Phytochemistry* 67: 1943-1949.
- Máximo, P.; Lourenco, A.; Tei, A.; Wink, M.
2006. Chemotaxonomy of Portuguese *Ulex*: quinolizidine alkaloids as taxonomical markers. *United Kingdom. Phytochemistry*, 17 (67): 1943-1949.
- Máximo, P.; Lourenco, A.; Savluchinske S.; Roseiro, J.
2002. Flavonoids from *Ulex airensis* and *Ulex europaeus* ssp. *Europaeus*. *J. Nat. Prod.*, 65: 175-178.
- Medeiros, F.; Resende, M.; Medeiros, F.; Zhang, H.; Paré, P.
2009. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74: 175-183.
- Mithöfer, A.; Boland, W.
2012. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 431-450.
- Muthukumar, A.; Eswaran, A.; Nakkeeran, S.; Sangeetha, G.
2010. Efficacy of plant extracts and biocontrol agents against *Pythium aphanidermatum* inciting chilli damping-off. *Crop Protection*, 29: 1483-1488.
- Nenaah, G.
2011. Toxicity and growth inhibitory activities of methanol extract and the b-carboline alkaloids of *Peganum harmala* L. against two coleopteran stored-grain pests. *Journal of Stored Products Research*, 47: 255-261.
- Osorio, O.; Cerda, M.
1984. *Icerya purchasi* M. y otros organismos asociados a *Ulex europaeus* L. y *Cytisus monspessulanus* L. *Bosque*, 5: 110-114.
- Przybylaka, J.; Ciesiolka, D.; Wysocka, W.; García, P.; Ruiz, M.; Wysocki, W.; Gulewicz, K.
2005. Alkaloid profiles of Mexican wild lupin and an effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annum* L.). *Industrial Crops and Products*, 21: 1-7.
- Sepúlveda, G.; Porta, H.; Rocha, M.
2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. México. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 3 (21): 355-363.
- Tighe, R.; Montalba, R.; Leonelli, G.; Contreras, A.
2014. Efecto de dos extractos botánicos en el desarrollo y contenido de polifenoles de ají (*Capsicum annum* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5: 115-127.
- Upadhyay, B.; Kumar, K.
2010. Ethno-medicinal, phytochemical and antimicrobial studies of *Euphorbia tirucalli* L. *Journal of Phytology*, 2 (4): 65-77.
- Wink, M.
1993. Quinolizidine alkaloids. In: *Methods in plant biochemistry*, pp. 197-239 Waterman P, ed., Vol. 8, Academic Press.

