

CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE METABOLITOS OBTENIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN SOBRE *SITOPHILLUS ORYZAE* LCHARACTERIZATION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF METABOLITES OBTAINED BY DIFFERENT EXTRACTION METHODS ON *SITOPHILLUS ORYZAE* LMichael Madruga Suárez¹E-mail: michaelmadruga0@gmail.comORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1099-7652>Aurora Alonso Jiménez¹E-mail: lianydiasalonso@gmail.comORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1132-548X>Yhosvanni Pérez Rodríguez²E-mail: yprodriguez@ucf.edu.cuORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2078-8961>José O. Guerra de León²Email: jo@uclv.edu.cuORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6885-5481>¹Universidad de Cienfuegos. Facultad de Agronomía²Universidad Central Marta Abreus de las Villas

Cita sugerida (APA, séptima edición)

Madruga Suárez, M., Alonso Jiménez, A., Pérez Rodríguez, Y., & Guerra de León, J. O. (2022). Caracterización y actividad biológica de metabolitos obtenidos por diferentes métodos de extracción sobre *Sitophilus oryzae* L. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(3), 192-197. <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>

RESUMEN

La utilización de aceites esenciales, extractos y polvos para combatir insectos que pueden afectar indirectamente al ser humano resulta una alternativa eficaz, económica y de menor impacto ambiental que la utilización de compuestos químicos sintéticos. El estudio de estos productos se ha transformado en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes para muchos países, estos son extraídos de las plantas demostrando actividad insecticida y efectos protectores tan variados que van desde repelencia, inhibición de la alimentación, ovoposición, toxicidad aguda hasta la interferencia con el crecimiento y desarrollo. Debido a la diversidad de sus aplicaciones se ha hecho imprescindible su búsqueda en plantas como las de la familia *Myrtaceae*, reconocidas a nivel mundial por sus propiedades y utilización.

Palabras Clave:

Aceites esenciales, actividad biológica, extractos, polvo, *Myrtaceae*, metabolitos, *Sitophilus oryzae* L.

ABSTRACT

The use of essential oils, extracts and powders used to repel insects that can affect the human being indirectly are an effective, economic alternative and of smaller environmental impact than the use of synthetic chemical compounds. The study of these products has become one of the most important areas of investigation and development for many countries, these are extracted from the plants demonstrating insecticide activity and protective effects so varied that they go from repellency, inhibition of the feeding, ovoposition, sharp toxicity to the interference with the growth and development. Due to the diversity of their applications the search of these products in plants as those of the family *Myrtaceae* has become indispensable, globally recognized for their properties and use.

Keywords:

Essential oils, biological activity, extracts, powder, *Myrtaceae*, metabolites, *Sitophilus oryzae* L.

INTRODUCCIÓN

Comunidades enteras vieron frustradas sus posibilidades de desarrollo por los daños que ocasionaban las plagas a los cultivos, desde el mismo comienzo de la humanidad. Sin embargo, a medida que el hombre evolucionaba crecía la búsqueda de sustancias que lograran alejar a los molestos insectos.

Diversos estudios realizados en América Central muestran que el 70 % de los granos que se malogran en la etapa de almacenamiento se debe al ataque de cerca de 100 especies de insectos (Heinrichs, 2007). A nivel mundial más de 250 especies de insectos están relacionadas con los granos almacenados y de estas unas 20 tienen importancia económica, encontrándose principalmente en los órdenes *Coleóptera* y *Lepidóptera*.

Los insectos que atacan los granos almacenados tienen características propias que les distinguen y diferencian de los que se encuentran afectando la mayor parte de los cultivos en el campo. Estos son pequeños, prefieren los sitios oscuros, capaces de esconderse en grietas muy reducidas y se caracterizan por su elevada capacidad de reproducción (Pereira, 1993), (Morales, 2011).

El *Sitophilus oryzae* no se considera una plaga de importancia económica en el campo porque su verdadera importancia se encuentra en los cereales y algunos granos almacenados (Reyes, 2006). Éste al ovopositar en las semillas almacenadas y desarrollarse las larvas dentro de éstas, merman su valor comercial por el mal olor y estado de la presentación del grano, es considerado la plaga más importante en productos almacenados, cada larva destruye durante su desarrollo, entre el 50 y el 70 % del endospermo de la semilla, además de quitarle un gran porcentaje de proteínas y vitaminas a las mismas, al abrir el grano dejan el camino libre a bacterias, hongos y levaduras que se encuentran en el tracto digestivo y desechos fecales de estos artrópodos (Hong, 2018).

Durante las últimas décadas, las medidas de control sobre las plagas que atacan los granos almacenados están limitadas al empleo de productos químicos líquidos o gaseosos, que resultan nocivos para la salud de los organismos vivos y el ambiente (Machial, 2006).

El uso indiscriminado de estas sustancias químicas ha propiciado el desarrollo de especies de insectos resistentes. Las desventajas que presenta el uso de insecticidas orgánicos sintéticos en el control de plagas es cada día más evidente, ya que algunos son carcinogénicos, teratogénicos, producen esterilidad, dañan el sistema nervioso y afectan la salud de quienes los aplican o consumen alimentos con sus residuos. Además, las aplicaciones de insecticidas para el control de *S. oryzae* no han logrado la eficacia deseada dado que la larva se encuentra protegida en el interior del grano (Andrade., 2007).

Varias investigaciones han demostrado que su uso continuo e indiscriminado tiene un negativo impacto ambiental, por lo que la ciencia ha recurrido a los productos

naturales como fuente de nuevos y efectivos métodos para el control de plagas en la agricultura.

Existen plantas de diferentes familias que contienen compuestos químicos que resultan ser una excelente fuente de productos naturales biológicamente activos (Isman, 2000); (Clemente, 2003), ya que producen más de 100 000 sustancias de bajo peso molecular conocidas como metabolitos secundarios.

Las plantas utilizadas como fitoplaguicida son convenientes para proteger productos almacenados del ataque de insectos plaga, al ser menos tóxicas que los insecticidas químicos y fácilmente biodegradables (Isman, 2006).

Muchos de estos productos se encuentran en los aceites esenciales y compuestos naturales extraídos de las plantas que demuestran actividad insecticida y tienen efectos protectores tan variados que van desde repelencia (García, 2005), inhibición de la alimentación, ovoposición, toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento y desarrollo (Belchí, 2008).

En Cuba se han evaluado especies botánicas con actividad fitoplaguicida para la síntesis de nuevos tipos de insecticidas. Entre las plantas más utilizadas se encuentran representantes de las familias Asteraceae, Apiaceae, Fabaceae, Clusiaceae, Meliaceae, Piperaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Solanaceae y Myrtaceae; las cuales poseen importantes volúmenes de aceites esenciales (Pino, 2013). Aspectos que muestran a las Myrtaceae como una nueva alternativa viable al control de plagas, con enfoque ecológico al mezclar materiales de plantas y granos para proteger a éstos durante el almacenamiento (Lee B. H., 2004); (Pérez, 2020). Dentro de esta familia están los llamados *Callistemon*, estas plantas son nativas de Australia y están ampliamente distribuidas en regiones subtropicales y tropicales, comúnmente conocido como árbol del cepillo para botellas por la semejanza de sus flores a una botella tradicional. La actividad fotoquímica y antimicrobiana de diferentes tipos de *Callistemon* se informó anteriormente, pero se sabe poco sobre la actividad biológica de estos (Shukla, 2012).

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal necesario para llevar a cabo los experimentos se seleccionó en el Jardín Botánico de Cienfuegos y el Jardín Botánico de la UCLV "Marta Abreu" de forma tal que no estuviera dañado y se procesó inmediatamente para que no perdiera la frescura.

Tabla I: Materiales y equipos utilizados

Materiales y equipos	Modelo	Marca
Condensador		
Soporte universal		
Pinzas para soporte		
Balones de destilación de fondo plano	IKA	

Balones de destilación de fondo redondo	IKA	
Presillas para balones		
Vasos de precipitado		
Mangueras para la conducción del agua		
Mantas de calentamiento		
Hornilla	FRC-150	Raypa
Pipeta (25ml)		
Balanza técnica	BS 2202 S	Sartorius
Embudo separador		
Rotoevaporador	IKA RV10	
Clevenger		
Baño ultrasónico	SB-3200DT	Ultrasonic Cleaner
Soxhlet		

Tabla II: Reactivos

Reactivos	Densidad	Rango de temperatura
n-Hexano	0,66 g/ml	60-90°C
Acetato de etilo	1,49 g/ml	60-62°C
Metanol	0,81 g/ml	64-65°C

*Todos los reactivos utilizados fueron de las firmas MERCK y PANREAC

Métodos

Los métodos idóneos para realizar esta investigación fueron la extracción por arrastre con vapor de agua, técnica del soxhlet, maceración y el baño ultrasónico; escogidos por su facilidad y ser utilizados a gran escala a nivel mundial. Además, su empleo no requiere equipos modernos y sofisticados, por lo que constituyen la alternativa más barata y eficiente.

Arrastre con vapor de agua

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias muy volátiles, por ejemplo, para la perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, a la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (Peredo-Luna, 2009). Para este trabajo se tomaron 30g de material vegetal, se colocaron en el equipo, se les dio un tiempo de 2h y después se extrajo el aceite con un gotero y una pipeta.

Soxhlet

El extractor Soxhlet o simplemente Soxhlet es un tipo de material de vidrio utilizado para la extracción de diferentes compuestos, contenidos en un sólido, a través de un

solvente a fin. El sistema de extracción Soxhlet ha sido ampliamente utilizado en la extracción de aceite, este sistema se compone de un balón donde se encuentra un solvente orgánico, que es calentado hasta ebullición, un tubo de extracción Soxhlet, donde es colocada la muestra, la cual va contenida en un cartucho de celulosa y un condensador (Peredo-Luna, 2009). Para este estudio utilizamos 25g de material vegetal, 100mL del solvente que se fuera a utilizar en cada caso y se le dio un tiempo de duración 2h y 30min.

Maceración

El proceso de **maceración** no es más que un proceso de extracción entre materias de diferentes estados físicos de sólido-líquido, en el cual los compuestos químicos de interés se encuentran en el material sólido, ya que estos poseen **solubilidad** y se usa un líquido que permita su extracción (Peredo-Luna, 2009). Para este trabajo se utilizaron 50g de material vegetal, 200mL del solvente a utilizar y se le dio un tiempo de duración de 48h de acuerdo a lo que se plantea en la literatura.

Baño ultrasónico

El principio de funcionamiento del ultrasonido, consiste en la creación de ondas de alta frecuencia en un tanque que contiene agua, las ondas de vibración se propagan uniformemente en todo el volumen del tanque, la formación de ondas de compresión y descompresión dan lugar a "microburbujas" (cavitación), que implosionan alcanzando presiones muy altas (Peredo-Luna, 2009). En este trabajo se utilizaron 50g de material vegetal, 150mL de solvente y se le dio un tiempo de duración de 15 min de acuerdo a lo que plantea la literatura.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Condiciones y requerimientos para la selección de las plantas

Para este estudio, primero se llevó a cabo una recopilación de información en disímiles artículos y tesis doctorales para de ahí hacer una selección de las 10 mejores plantas por resultados y a partir de ese momento comenzar el trabajo experimental. Para su colecta se tuvo en cuenta la época del año de acuerdo a la información encontrada en los documentos revisados, es por ello que se utilizaron hojas frescas adultas recolectadas en el Jardín Botánico de Cienfuegos, consejo popular Pepito Tey, provincia Cienfuegos y en el Jardín Botánico de la UCLV "Marta Abreu". Se tomaron muestras al azar de las diferentes especies, el material se seleccionó que no estuviera dañado y se procesó fresco. A continuación, presentamos una tabla con la relación de dichas plantas:

Tabla III: Especies botánicas de la familia Myrtaceae utilizadas en los experimentos

NOMBRES CIENTÍFICOS	FAMILIA
<i>Psidium friedrichsthalium</i> (O. Berg) Nied.	Myrtaceae
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine	Myrtaceae
<i>Pimenta dioica</i> (L.) MERRILL	Myrtaceae
<i>Callistemon citrinus</i> (Curtis)	Myrtaceae
<i>Eugenia foetida</i> Pers	Myrtaceae
<i>Callistemon lanceolatus</i> (Sm.) Sweet	Myrtaceae
<i>Eugenia asperifolia</i> O. Berg	Myrtaceae
<i>Syzygium jambos</i> . L. (Alston).	Myrtaceae
<i>Eugenia uniflora</i> L	Myrtaceae
<i>Syzygium malaccense</i> (L.)	Myrtaceae

Luego de la colecta del material según la metodología utilizada por (Hernández, 2003), se procedió al secado en una estufa de 40 a 50 °C durante 2h, cada planta por separado.

Después pasamos al proceso de molinado donde se obtuvieron partículas menores de 1mm, siguiendo lo recomendado por (Ramírez, 2005).

Al concluir el extenso trabajo de moler todas las especies, se les hizo una prueba de ensayo biológico frente a *S.oryzae* L. se realizó según lo descrito por (Chaubey, 2016), se utilizaron placas plásticas de Petri de 9cm a cada uno de ellos se le adicionó sucesivamente 5, 10, 15, 25 µL/cm², al finalizar este ensayo se tomó la decisión que las mejores plantas de acuerdo con su efecto insecticida y su influencia sobre la efectividad contra *Sitophilus oryzae* L. fueron el *Callistemon Citrinus*, *Pimenta Dioica* y *Syzygium malaccense*. Luego de seleccionadas las plantas a trabajar se comenzaron todos los análisis pertinentes mediante los métodos anteriormente mencionados.

Extracción de los aceites esenciales

Para la extracción de los aceites esenciales se utilizó un equipo Clevenger según lo establecido en la norma ISO 65-71:84 (1984), el aceite se secó sobre sulfato de sodio

anhidro y se guardó en refrigeración hasta su análisis (Sánchez, 2014).

Resultado de la extracción de *Callistemon Citrinus*

Para este trabajo nos auxiliamos del método de arrastre con vapor de agua, se realizó 1 extracción con una masa vegetal total de 30g, en un tiempo aproximado de 2h comenzando la destilación a los 18 min y se obtuvo una masa en aceite de 0.76g.

Luego del pesado de la muestra de aceite esencial obtenida se efectuó el cálculo de un rendimiento preliminar mediante la fórmula:

$$R = \frac{M1}{M2} \cdot 100$$

Donde M1: masa del aceite esencial extraído

M2: masa vegetal

Se obtuvo un rendimiento de 1.3%.

Resultado de la extracción de *Syzygium Malaccense*

Mediante el mismo método se realizó una extracción con una masa vegetal total de 30g, en un tiempo aproximado de 2h. Para esta planta no se pudo extraer aceite, se está analizando e investigando si en otras publicaciones se haya logrado obtener aceite o si es problema del método en específico o de la parte de la planta porque se sabe que el fruto si es efectivo en términos de aceites.

Resultado de la extracción del *Pimenta Dioica*

Igualmente, no auxiliamos del método anterior, se realizó 1 extracción con una masa vegetal total de 30g, en un tiempo aproximado de 2h comenzando la destilación a los 25 min y se obtuvo una masa en aceite de 0.91g, con un rendimiento de 0.57g.

Selección de los productos promisorios en base al estudio biológico

A partir de las tres plantas seleccionadas se realizaron un grupo de experimentos con 3 solventes de diferentes polaridades y los 3 métodos anteriormente mencionados, en total 27 muestras presentadas a continuación en la siguiente tabla:

Tabla IV: Relación de plantas, métodos, solventes y pesos

Planta, método y solvente	Peso(g)	Planta, método y solvente	Peso(g)	Planta, método y solvente	Peso(g)
PMH1	0.88	CMH10	0.55	SMH19	0.43
PMAE2	0.66	CMAE11	3.84	SMAE20	0.49
PMM3	4.39	CMM12	4.03	SMM21	0.1
PSH4	0.28	CSH13	1.04	SSH22	0.4
PSAE5	0.43	CSAE14	5.27	SSAE23	0.14
PSM6	3.14	CSM15	1.11	SSM24	0.89
PUH7	1.09	CUH16	0.99	SUH25	0.67

P UAE8	2.15	C UAE17	3.75	S UAE26	1.05
P UM9	4.56	C UM18	2.67	S UM27	1.14

Leyenda:

P: Pimenta **M:** Maceración **H:** Hexano
C: Callistemon **U:** Ultrasonido **AE:** Acetato de etilo
S: Syzygium **S:** Soxhlet **M:** Metanol

Luego de haber obtenido los resultados de dichos experimentos, se realizó un ensayo biológico preliminar para seleccionar las muestras con mayor poder insecticida quedando solamente las presentadas a continuación:

Tabla V: Muestras promisorias a estudiar

Planta, método y solvente	Peso (g)
PMH	0.15
SUM	1.15
CSH	0.37
SSH	0.60

Determinación de perfiles cromatográficos de los productos seleccionados

A partir de las muestras anteriores se decidió hacer una determinación de los perfiles cromatográficos para tener una idea de la cantidad de componentes posibles que se podrían encontrar. Para esto nos auxiliamos de la cromatografía de capa fina (CCF) sobre soporte de aluminio, silicagel y como revelador ácido sulfúrico al 50% con posterior calentamiento.

Con motivo de que en tres de las muestras se utilizó el mismo solvente se decidió incluirlas en una misma placa para que así fuera más fácil la observación y el análisis de los resultados.

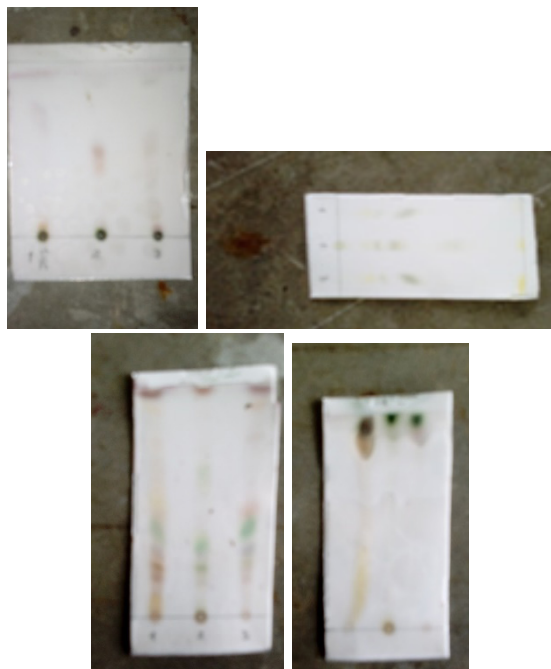


Fig. 1: Placa 1 **Fig. 2:** Placa 2 **Fig. 3:** Placa 3 **Fig. 4:** Placa 4

En la fig. 1 para la placa 1 se utilizó 1mL de metanol como fase móvil, en el perfil cromatográfico se puede apreciar que en las diferentes muestras aplicadas hay manchas muy bien definidas y que se trata de mezclas muy complejas, generando Rf mayores que corresponden a metabolitos más intensos. Para el punto 1, la mancha no corresponde a los valores de Rf entre 0,3 y 0,7, sino que tiene un valor de 0.9 que podría ser indicativo mayores concentraciones de metabolitos apolares o de metabolitos diferentes con respecto a las demás especies en estudio. Para los puntos 2 y 3 presentan Rf similares con un indicativo 0,56 y sus manchas muestran un corrimiento también similar, en el origen aún queda muestra a pesar del corrimiento grande que se observa.

En la fig. 2 para la placa 2 se utilizó 1mL de cloroformo como fase móvil, en el perfil cromatográfico se evidencia que en las diferentes muestras aplicadas hay manchas muy bien definidas y que aún sigue siendo una muestra muy compleja. En este caso podemos decir que hay manchas desde el punto de aplicación hasta el frente de solvente, interfiriendo en el cálculo de los Rf haciéndolo complejo.

En la fig. 3 para la placa 3 se utilizó 1mL de acetato de etilo como fase móvil, en el perfil cromatográfico se evidencia que las manchas no están del todo definidas, con este solvente se observan la diversidad de colores y el corrimiento grande hacia el frente de solvente.

En la fig. 4 para la placa 4 se utilizó 1mL de metanol como fase móvil, en el perfil cromatográfico podemos observar que aún quedan algunos colores que sobresalen; pero en este caso en específico las tres muestras corrieron directamente hacia el frente de solvente, imposibilitando el cálculo de los Rf dado que está por encima de 0.7 el poder de elusión de la fase móvil.

Leyenda:

Punto 1: CSH
Punto 2: SSH
Punto 3: PMH

Para el caso de la muestra que se realizó con metanol, también se sometió al mismo procedimiento del análisis cromatográfico aumentando en cada placa la polaridad.



Fig. 5: Placa 5 Fig. 6: Placa 6 Fig. 7: Placa 7 Fig. 8: Placa 8

Para las cuatro placas en general, podemos decir que el cálculo de los Rf se vio dificultado porque en todas las placas las manchas eluyeron en forma de franja, donde a medida que se aumentaba la polaridad esta mancha se corría hacia el frente de solvente y disminuía el color del punto de aplicación.

Leyenda:

Punto 1: SUM

CONCLUSIONES

- Se establecieron las condiciones para la obtención de los extractos, obteniendo 27 extractos con características repelentes.
- Se seleccionaron los productos promisorios, de 27 extractos, 4 de ellos fueron los de mejores resultados siendo ellos PMH, SUM, CSH y SSH.
- A pesar de ser mezclas extremadamente complejas, los mejores resultados de la CCF fueron en la placa 3 que corresponde al acetato de etilo y en la placa 4 con metanol.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Andrade. (2007). Toxicidad de polvos de canelo (*Drimys winteri* J. R. et G. Forster) contra *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY bajo condiciones de laboratorio.
- Belchí, M. D. (2008). Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plaga del arroz almacenado. Universidad de Murcia.
- Chaubey, K. M. (2016). Insecticidal activities of *Cinnamomum tamala* (Lauraceae) essential oil against *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae) . *J. Entomol*, 91-98.
- Clemente, S. M. (2003). Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas.*, 1-8.
- García, M. D. (2005). Toxic and repellent effects of *Bacharis salicifolia* essential oil on *Tribolium Castaneum*. *Pest Management Science*, 612-618.
- Heinrichs, E. (2007). Plantas alelopáticas .
- Hernández, D. L. (2003). Actividad antidermatofítica in vitro de aceites esenciales. . *Revista cubana de plantas medicinales*.

Hong, K. L. (2018). First confirmation of the distribution of rice weevil, *Sitophilus oryzae*, in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 69-75.

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 603-608.

Isman, M. B. (2006). Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *Naturally Occurring Bioactive Compounds, Elsevier, Amsterdam, Netherlands.*, 29-44.

Lee, B. H. (2004). Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against tree major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 553-564.

Machial, M. I. (2006). Esticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *Naturally Occurring Bioactive Compounds*.

Morales, R. (2011). Evaluación de follaje de tres especies arbóreas nativas sobre *Sitophilus oryzae* L. en trigo almacenado.

Peredo-Luna, H. A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción . *Temas selectos de ingeniería de los alimentos*.

Pereira, F. (1993). Conservación y protección de los granos almacenados. *Manual de manejo postcosecha de granos a nivel rural*.

Pérez, Y. (2020). Diez especies de Myrtaceae como alternativa para el control de *Sitophilus oryzae* L. en semillas de *Zea mays* L.

Pino, O. S. (2013). Plant secondary metabolites as alternatives in pest management II: An overview of their potential in Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 95-108.

Ramírez, S. (2005). Plantas con acción repelente e inhibitoria de la reproducción de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleóptera; Bruchidae).

Reyes, V. (2006). Efectos de residuos de plantas sobre *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae).

Sánchez, P. Y. (2014). Composición química del aceite esencial de *Piper hispidum* Sw. y actividad antimicrobiana sobre *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson y *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson. *Revista de Protección Vegetal*, 185-191.

Shukla, R. S. (2012). Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet essential oil and its major component 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. *Food Control*, 28.