



Tesis para Optar por el Título

Ingeniero Agrónomo

Título:

Efecto del aceite esencial de Caisimón de anís *Piper auritum* Kunth para el control *in vitro* del gorgojo *Sitophilus zeamais* Motschulsky en granos de maíz (*Zea mays* L.)

Autor: Anay Pérez Crespo

Tutor: MSc. Yhosvanni Pérez Rodríguez

Cienfuegos, 2014





Hago constar que el trabajo titulado: “ Efecto del aceite esencial de Caisimón de anís *Piper auritum* Kunth para el control *in vitro* del gorgojo *Sitophilus zeamais* Motschulsky en granos de maíz (*Zea mays* L.)”, fue realizado como parte de la culminación de los estudios universitarios en la especialidad de Ingeniería Agrónoma, por la que suscribe: Anay Pérez Crespo, en la Universidad de Cienfuegos.

Firma del Autor

Las personas que firman abajo certifican que la investigación ha sido realizada según acuerdos de la dirección del centro y que la misma cumple con los requisitos que debe tener un trabajo de esta envergadura, referido a la temática señalada.

Información Científico-Técnica

Computación

MSc. Grisel Pérez González

Oponente

MSc. Yhosvanni Pérez Rodríguez

Tutor

Pensamiento

Siémbrese química y agricultura y se cosecharán grandeza y riqueza.

José Martí.

Dedicatoria

A mi hija por su comprensión a su corta edad y su apoyo incondicional.

A mi madre que estuvo conmigo desde el principio de mis estudios, por saber inculcarme que las cosas importantes como el conocimiento siempre valen mucho.

A mis compañeros de estudio en estos 6 años de universidad, por todos los momentos que compartimos que junto a ellos el camino fue mucho más fácil.

A todas las personas que hicieron posible mi formación como profesional y con nuevas ideas ante la vida.

Agradecimientos

Mi agradecimiento está dirigido a todas las personas que contribuyeron con su aporte a la realización de la investigación.

En primer lugar a mi pequeña Danay Rodríguez Pérez por darme fuerzas para terminar mi carrera.

A mi familia por su apoyo incondicional.

A mi tutor MCs Yhosvanni Pérez Rodríguez por estar siempre dispuesto a ayudar y guiar con profesionalidad todo el trabajo realizado.

Al laboratorio de física de la facultad de mecánica en especial al técnico Jaime Cabrera Ortega por su ayuda generosa.

A Lilié Gradaille Aguila por su aporte que fue imprescindible para la confección y estética de este proyecto.

A todo el que puso un granito de arena en esta investigación.

Muchas Gracias.

Resumen:

Se estudió la efectividad del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth, para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleóptera Curculionidae) plaga de granos de maíz en condiciones de almacenamiento. El estudio se realizó en el laboratorio de física perteneciente a la Facultad de Ingeniería y el Laboratorio de Biología de Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Cienfuegos Cuba. La investigación se desarrolló durante el período 2013-2014. Se realizaron ensayos con la especie *Sitophilus zeamais* Motschulsky sobre granos de maíz importante plaga de productos alimenticios almacenados, las observaciones se realizaron a las 24, 48, 72, 96, 144 y 216 horas posteriores al tratamiento con el fitoplaguicida, los datos en porcentaje se transformaron en $2 \arccos \sqrt{p}$ y se procesaron por medio de un análisis de varianza con un nivel de probabilidad de 5% una vez comprobada la normalidad por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 15 para WINDOW. Al finalizar el experimento en el control de la plaga se estudió el aceite esencial a la dosis mínima 0.2ml logró el 100% de mortalidad en el caso del testigo absoluto, *Piper auritum* Kunth en polvo y el agua floral utilizada, obtenida del proceso de hidrodestilación, no mostraron diferencias significativas alcanzando el mismo porcentaje en dosis similares.

Summary.

The effectiveness of the essential oil of *Piper .auritum Kunth* was studied, for the control of *Sitophilus .zeamais Motschulsky Coleóptera Curculionidae* plague of corn grains under storage conditions. The study was carried out in the physics laboratory belonging to the Engineering Building and the Laboratory of Biology of the Agrarian Sciences Building of the Cienfuegos University, Cuba. The investigation was developed during the period of 2013-2014. Rehearsals with the *Sitophilus zeamais Motschulsky Coleóptera Curculionidae* species on corn grains were carried out, an important plague of stored nutritious products. The observations were carried out at 24, 48, 72, 96, 144 and 216 hours after the treatment with the fitoplaguicida. The data in percentage $\sqrt{p}$ became 2 arcosen and they were processed through a variance analysis with a level of probability of 5% once checked the normality to the *Kolmogorov-Smirnov* test and using the statistical package SPSS version 15 for WINDOW. When the experiment in the control of the plague in study was concluded, the essential oil to the minimum dose 0.2ml achieved 100% of mortality. In the case of the absolute witness, powdered *Piper auritum Kunth* and floral water used on, obtained of the hidrodestilation process, they didn't show significant differences reaching the same percentage in similar dose.

Índice

1	Introducción.....	9
2	Revisión bibliográfica.....	12
2.1	Descripción del cultivo (<i>Zea Mays</i> L).....	12
2.1.2	Clasificación taxonómica.....	12
2.2.	Pérdidas en post cosechas provocadas por las plagas.....	13
2.3.	Características generales de <i>Sitophilus Zeamais</i> Motschlsky	15
2.4	Uso del caisimón de anís <i>Piper auritum</i> Kunth.....	15
2.5	Características generales del caisimón de anís <i>Piper auritum</i> Kunth.....	16
2.6	Reseña histórica de los aceites esenciales.....	17
2.6.1	Definición de los aceites esenciales.....	18
2.6.2	Composición química del aceite esencial (AE).....	18
2.6.3	Clasificación de los aceites esenciales.....	18
2.6.4	Métodos de obtención de los aceites esenciales.....	19
2.6.5	Destilación con arrastre con vapor de agua.....	20
2.6.6	Proceso de hidrodestilación.....	21
2.7	Uso de los aceites esenciales en Cuba.....	22
2.7.1	Uso del aceite esencial de <i>Piper auritum</i> Kunth.....	22
3	Materiales y métodos.....	23
3.1	Evaluación del método óptimo para extraer aceite esencial en hojas de caisimón de anís <i>P. auritum</i> , con fines insecticida.....	23
3.2	Evaluación en condiciones <i>in vitro</i> la efectividad técnica del aceite esencial de <i>P. auritum</i> , para el control de <i>S. zmais</i> plaga de granos de maíz almacenados <i>Zea mayz</i> L.....	24
3.3	Determinación de la efectividad en condiciones <i>in vitro</i> del agua floral resultante del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de <i>P. auritum</i> para el control de <i>S. zeamais</i>	25
4.	Resultados y Discusión.....	26
4.1	Determinación del método óptimo para extraer aceite esencial en las hojas de caisimón de anís <i>P. auritum</i> , con fines insecticida.....	26
4.2	Evaluación en condiciones <i>in vitro</i> la efectividad técnica del aceite esenciales de <i>P. auritum</i> , para el control de <i>S. zmais</i> plaga de granos de maíz almacenados <i>Zea mayz</i> L.....	27
4.3	Determinación de la efectividad en condiciones <i>in vitro</i> del agua floral resultante del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de <i>P. auritum</i> para el control de <i>S. zeamais</i>	30
	Conclusiones.....	33
	Recomendaciones.....	34
	Bibliografía.....	

Introducción

A nivel mundial, el manejo de los granos almacenados se ha tornado un problema de difícil control por la gran cantidad de plagas que atacan directamente la calidad física, química y biológica de los diferentes productos. Las pérdidas más relevantes se encuentran en países tropicales y subtropicales, en los que las condiciones de humedad relativa y temperatura son idóneas para la propagación a gran escala de toda clase de insectos. Las plagas de los granos almacenados no sólo afectan la calidad, sino que además, son precursores de hongos y otros microorganismos indeseables a la hora de comercializar y consumir los productos. (Andrews y Quezada, 1989)

El 37% de las pérdidas de las cosechas en todo el mundo se debe a plagas, siendo los agricultores en pequeña escala los más afectados. El efecto es aún mayor en las semillas que deben ser almacenadas por largos períodos. (Franco *et al.*, 2002).

Nava *et al.* (2002), señalan que los principales cultivos de granos son el maíz y el frijol, con una producción de 2, 657,410 y 106,851 t respectivamente en el año 2007 y las plagas más comunes en granos almacenados son en maíz, el gorgojo *Sitophilus zeamais* y en frijol *Phaseolus Vulgaris*, el gorgojo pardo *Acanthoscelides obtectus* Say Coleóptera: Bruchidae

En Cuba la relación de plagas detectadas en productos almacenados es bastante extensa, principalmente de insectos y entre estos los coleópteros y lepidópteros son los predominantes. Esto trae consigo grandes pérdidas económicas por los daños causados tanto en granos como subproductos infestados por estos agentes. (Coway, 1976).

En la provincia de Cienfuegos basado en las inspecciones periódicas realizadas a instalaciones pertenecientes al MINCIN, MINAZ, TURISMO, MINAGRI las especies que con más frecuencias se detectaron en el período desde 1976 hasta 1985 según Álvarez y González (1985), fueron *Tribolium castaneum* Herbst, *Sitophilus zeamais* L, *Alphitobius zeamais* Panz, *Rhyzopertha dominica* F, *Latheticus zeamais* L, *Corcyra cephalonica* Stainton y *Ephesia cautella* L.

En los últimos años se han evidenciado un extraordinario auge de la química de los productos naturales en el ámbito mundial. Entre los tres grupos de productos de origen botánico que con mayor probabilidad tendrán el impacto más notable en la protección de plantas en la próxima década se encuentran los aceites esenciales y sus constituyente provenientes de diferentes especies vegetales. (Isman, 2006).

Al respecto, numerosas especies de varias familias vegetales han sido utilizadas en el control de diversos insectos responsables en la transmisión de enfermedades o como plagas en todos los cultivos del mundo. Entre estas familias destaca las piperaceae, especialmente los miembros del género Piper. (Bernard *et al*, 1995)

El género Piper, perteneciente a la familia piperaceae, a sido objeto de estudios fotoquímicos y biológicos, los aceites esenciales, obtenidos de diferentes plantas pertenecientes a este género, inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes al hombre, las plantas y los animales. Nuevos plaguicidas basados en este aceite podrían constituir una alternativa eficaz y ambientalmente segura para el control plagas, tomando inconsideración la amplia disponibilidad y facilidad de cultivo de esta especie vegetal (Sánchez *et al*, 2009)

En consideración a lo antes expuesto nos trazamos el siguiente problema científico.

Problema científico:

Para el control de de *Sitophilus zemais* Motschulsky plaga de almacén en el cultivo del maíz *Zea mayz* L se probará la efectividad del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth

Teniendo en cuenta el problema se estableció la siguiente hipótesis.

Hipótesis

El aceite esencial obtenido de la planta de *Piper auritum* Kunth para la lucha contra insectos dañinos a los granos de maíz almacenados, permitirá disponer de un nuevo fitoplaguicida que formará parte de las alternativas de lucha de estos agentes nocivos.

Para dar cumplimiento a la hipótesis se formularon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

1. Evaluar en condiciones *in vitro* la efectividad técnica de aceite esenciales de *Piper. auritum* Kunth, para el control de *Sitophilus zemais* Motschulsky plaga de granos de maíz en condiciones de almacenamiento.

Objetivos específicos:

1. Determinar el método óptimo para extraer aceite esencial en hojas de Caisimón de anís *Piper auritum* Kunth, con fines insecticida.
2. Evaluar en condiciones *in vitro* la efectividad técnica del aceite esenciales de *Piper auritum* Kunth, para el control de *Sitophilus zemais* Motschulsk plaga de granos de maíz almacenados *Zea mayz* L.
3. Determinar la efectividad en condiciones *in vitro* del agua floral resultante del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de *P. auritum* para el control de *S zeamais*.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 Descripción del cultivo maíz (*Zea Mays* L.)

Zea mays L, comúnmente llamada maíz, choclo, millo o elote, es una planta gramínea anual originaria de América introducida en Europa en el siglo XVII. Actualmente, es el cereal con mayor volumen de producción en el mundo, superando al trigo y al arroz. Según Athie y Paula (2002), plantean que es una planta monoica; sus inflorescencias masculinas y femeninas se encuentran en la misma planta. Si bien la planta es anual, su rápido crecimiento le permite alcanzar hasta los 2,5 m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido; algunas variedades silvestres alcanzan los 7 m de altura.

El tallo está compuesto a su vez por tres capas: una epidermis exterior, impermeable y transparente, una *pared* por donde circulan las sustancias alimenticias y una *médula* de tejido esponjoso y blanco donde almacena reservas alimenticias, en especial azúcares. Las hojas toman una forma alargada íntimamente arrollada al tallo, del cual nacen las espigas o *mazorcas*. Cada mazorca consiste en un tronco u *olote* que está cubierta por filas de granos, parte comestible de la planta, cuyo número puede variar entre ocho y treinta FAO, (2006).

2.1.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ Clase: Liliopsida
- ✓ Subclase: Commelinidae
- ✓ Orden: Poales
- ✓ Familia: Poaceae
- ✓ Subfamilia: Panicoideae
- ✓ Género: *Zea*
- ✓ Especie: *Z. mays*
- ✓ Nombre binomial: *Zea mays* L.

2.2 PÉRDIDAS EN POST-COSECHA PROVOCADAS POR PLAGAS

Los insectos son responsables de gran parte del deterioro de los granos, esto incluye pérdida de peso, reducción de los índices de germinación, pérdida de valor comercial y aumento de la temperatura por la densidad de población (que produce humedad en el grano y la infestación por hongos). La FAO indica que las pérdidas de estos durante el almacenamiento son alrededor de un 10% de la cosecha, llegando al 30% en áreas tropicales y subtropicales (Agro Evo, 2005 y FAO, 2005).

Los cereales son considerados, mundialmente, como las especies vegetales de mayor importancia para la alimentación de los seres humanos y animales domésticos. Salgado y Soto (2012), expresan, que su almacenamiento y conservación por largos periodos de tiempo, es esencial para disponer de alimento en forma constante.

Andrade y Gutiérrez (2007) refiere que los daños ocasionados por insectos plaga a los granos almacenados pueden ser cuantiosos, lo que hace necesario la búsqueda de una alternativa de control eficaz, amigable con el ambiente y permanentemente disponible al agricultor.

García *et al.*, (2000) en estudios realizados plantean que en América Central vinculan el 70 % de los granos que se malogran en la etapa de almacenamiento, al ataque de cerca de cien especies de insectos, de los cuales 20 son considerados como plagas de importancia económica. Los gorgojos *Sitophilus* spp están entre las plagas primarias que pueden dañar el cereal entero y lo hacen sensible proclive a la infestación por otros insectos, plagas secundarias.

Agrega Ramírez (2005), que en Cuba se han incrementado las capacidades de almacenaje de los granos y el problema fundamental de estos sistemas de almacenamiento, son los insectos dañinos, que se ven favorecidos al estar protegidos de sus enemigos naturales, en un ambiente de abundancia de alimento.

Los insectos que atacan y dañan los granos y sus productos durante el almacenamiento, comenzaron a ser importantes desde que el hombre aprendió que

podía guardar sus cosechas para utilizarlas posteriormente como alimento o semilla (CNSV, 1985).

Según Dobie *et al* (1984), los insectos plagas, tanto primarios como secundarios pueden penetrar dentro de los envases y en productos a granel y llegar a infestar a una profundidad de 10 a 20cm. Estos insectos al moverse dejan calor, mal olor, excretas, mudas y restos de larvas muertas y producen una seda que une al producto formando grumos, lo que provoca que sea invalidado para el consumo ocasionando así importantes pérdidas.

Los daños directos están dados por el consumo y la contaminación de los productos almacenados y los indirectos calentamiento y migración de humedad. El alimento básico de los insectos es el almidón, éste y otros componentes del grano se metabolizan y generan intensos focos de calor, esta diferencia de temperatura en la masa de los granos conlleva movimientos de aire que terminan con incrementos de humedad en las zonas más frías. Otros daños son transmisión de enfermedades, distribución de hongos y otros microorganismos, incremento en los costos de almacenamiento (por el uso de insecticidas) y distribución de micotoxinas (D' Antonio, 1997).

Entre los insectos de infestación primaria señala González, (1995), a los gorgojos *Sitophilus* spp, *Acanthoscelides obtectus* Say, *Sitotroga cerealella* Oliv y *Rhyzopertha dominica* F, principal degradador de los granos sanos y producir la primera infestación al completar su ciclo, dejan el grano picado.

El control de *S. zeamais*, en granos almacenado, ha sido realizado a gran escala utilizando insecticidas sintéticos protectores y fumigantes, que a pesar de ser eficientes y económicos, pueden provocar efectos indeseables, como intoxicación a los aplicadores, presencia de residuos tóxicos en los granos, aumento de los costos en el almacenamiento y desarrollo de poblaciones de insectos resistentes (Tapondjou *et al.*, 2002; Ribeiro *et al.*, 2003)

2.3 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *SITOPHILUS ZEAMAI* MOTSCHULSKY

Sitophilus zeamais Motschulsky

Nombre común: Gorgojo del maíz.

Orden: Coleóptera

Familia: Curculionidae

Genero: *Sitophilus*

Refiere Salgado y Soto (2012), que el género Coleóptera: Curculionidae es una plaga que destruye los granos de cereales, con importancia económica reconocida en regiones tropicales. La hembra hace un orificio, generalmente en la región del embrión, para depositar sus huevos, los cuales son posteriormente cubiertos con una sustancia gelatinosa producida por la propia hembra. Las larvas y adultos provocan pérdida de peso, desvalorización comercial, pérdida en el valor nutritivo y disminución del poder germinativo de las semillas.

Una de las unidades más afectadas según González *et al*, (2004), fueron los almacenes de Harina proteicas pertenecientes a la Unión Molinera de Pienso, debido aparentemente a los grandes volúmenes de productos que se manipulan y el no cumplimiento en muchos casos de las medidas que ayudan a la disminución de las incidencias de plagas . En dichas instalaciones los principales insectos detectados fueron: *Tribolium castaneum* Herbt, *Corcyra cephalonica* Staifo, *Sitophilus zeamaiz* L, *Rhyzopertha dominica* F, *Ephestia cautella* Walk.

2.4 USO DEL CAISIMÓN DE ANÍS *PIPER AURITUM* KUNTH

Estas plantas poseen una serie de usos como medicina popular en toda América: en Guatemala y México la planta tiene valor como astringente, estimulante digestivo y diurético, varios son los efectos que pueden producir ciertas plantas sobre el desarrollo de algunas especies de insectos, de los cuales Gilvan *et al* (2000), destacan su efecto como esterilizante, interferencia con la oviposición, inhibición del desarrollo larval y

otras como atrayentes, también su efecto plaguicida actúa como veneno de contacto, veneno estomacal o como repelente.

Silva *et al.*, (2002) destaca que la mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida, es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos aunque algunas como la nicotina o la rotenona si provocan un efecto insecticida.

En Cuba es usada como hemostático, en remedios para las hemorroides, gonorrea, leucorrea, para las hemorragias menstruales y en baños para el tratamiento de varias dolencias externas. En Islas Vírgenes se toma la decocción de la planta como sedante, laxante y bebida refrescante. (Ciccío, J. y Ballester C, 1997).

2.5 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL CAISIMÓN DE ANÍS *PIPER AURITUM* KUNTH

Aguilera (1991) plantea que la especie *Auratum Kunth*, familia *Piperaceae*, ha sido de gran interés por la diversidad de los metabolitos secundarios volátiles presentes en sus aceites esenciales y su fuerte prometedora rica de safrol, hasta un 83-93%.

El género *Piper*, ampliamente distribuido en el Trópico, contiene más de 1000 especies. Este género posee fenilpropanoides, lignanos, sesquiterpenos y monoterpenos como borneol, alcanfor, cineol, eugenol, safrol y una amplia variedad de componentes bencénicos (Oliveira *et al.*, 2004). Su nombre científico es *P. auratum*, Pertenece a la familia *Piperaceae*. Es un arbusto natural de México, América Central y el norte de América del Sur. (Ochoa *et al.*, 2012).

Márquez (2011), plantea que la planta es frondosa, de hoja de 2 m de altura. Las hojas son acorazonadas y grandes, de color verdoso. Las flores están colocadas en espigas parecidas a cordoncillos de color verde pálido. Al estrujarse las hojas despiden un olor agradable. Es una especie originaria de México, distribuida en la parte sur del

continente Americano, habita en climas cálido, semicálido y semiseco desde el nivel del mar hasta los 2000 m. Crece a orillas de caminos en vegetación.

P. auritum es una planta que prefiere los lugares sombreados y húmedos para crecer, donde se hace perenne y alcanza un gran desarrollo; pero razones como: no contar siempre con un espacio que ofrezca estas condiciones al cultivo, las afecciones por plagas, enfermedades que contribuyan al deterioro de la droga producto de la asociación con otras especies y las variaciones en la composición química de la droga que pueden ocasionar las condiciones de cultivo de *Mentha piperita*, donde el porcentaje de aceite calculado sobre la base del peso seco del material vegetal fue mayor en el cultivo al sol, hacen pensar en la posibilidad de cultivar Caisimón de anís al sol a pesar de las preferencias de la especie (Hierrezuelo, 1989)

Pino (1998), expresa que para determinar el rendimiento de material vegetal en un principio se consideró evaluar todo el follaje tallos y hojas, pero el trabajo con esta especie demostró que sólo fueron de interés las hojas por poseer la mayor acumulación del principio activo, ya que los tallos entorpecían las labores de secado y molinado, al disminuir así la calidad de la droga por el bajo porcentaje de aceite esencial contenido en ellos. Se fundamentó la elección de la mejor práctica de cultivo según las hojas.

2.6. RESEÑA HISTÓRICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

El uso de los aceites esenciales se remonta a la antigüedad. Los egipcios los utilizaron bajo la forma de baños aromáticos. Homero decía del Egipto: "Tierra fecunda que produce en abundancia drogas, unas son remedios, las otras son perfumes: país de médicos los más sabios del mundo". El egipcio Zoísmo de Tebas (Siglo III), eminente químico, reportó que la destilación seca era practicada en los templos. Se han encontrados escritos que demuestran que los egipcios sabían destilar las esencias de las coníferas 40 siglos antes de Cristo. Los varones utilizaron los aceites para ser embalsamados. Esta técnica logró una conservación del cuerpo de, al menos 3000 años. (Salle, J.L. y Pelletier, J, 1991).

2.6.1 DEFINICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES (AE)

Se definen, según Afnor (1998), como: productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal, bien por arrastre con vapor, bien por procedimientos mecánicos a partir del epicarpio de las muestras o bien por destilación seca. El aceite esencial se separa posteriormente de la fase acuosa por procedimientos físicos en los dos primeros modos de obtención; puede sufrir tratamientos físicos que no originen cambios significativos en su composición.

2.6.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL (AE).

La mayoría de los componentes que forman parte de los pertenece a la familia química de los “terpenos” o “terpenoides” (ejemplo *limoneno*, *carvona* *humuleno*), la unidad isopreno C5 en el esqueleto hidrocarbonado es característica estructural distintiva que los diferencia de otros productos naturales (Carey, 1999).

Desde el punto de vista químico, se encuentran en la literatura estudios acerca de la identificación de los componentes mayoritarios del aceite esencial de estas especies y de algunas variedades recolectadas en diversas partes del mundo (Smith, 1996).

Se ha informado que los constituyentes principales del aceite obtenido por destilación al vapor de hojas frescas recolectadas en las Islas Fiji son dilapiol (58%) y piperitona (4%). En Panamá Gupta (1995), investigó la composición del aceite esencial de las hojas frescas de la planta recolectada, encontrando dilapiol (90%) como componente mayoritario, pero no encontraron piperitona.

El aceite esencial obtenido de diferentes variedades en la región amazónica tiene como componente mayoritario al dilapiol en un rango desde 3.4 a 12 %.(Maia *et al.*, 1998)

2. 6.3 CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles, generalmente son mezclas homogéneas de hasta 100 compuestos químicos orgánicos, provenientes de la familia

química de los terpenoides. Generan diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. Rodríguez y Meléndez (2012.), expresan que bajo condiciones de temperatura ambiental, son líquidos poco densos pero con mayor viscosidad que el agua. Los aceites esenciales son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, producidos al momento de activarse mecanismos de defensa como respuesta a factores ambientales y ecológicos, estos presentan roles de defensa, atracción de polinizadores, entre otros. Son inflamables, no son tóxicos,

Por su origen los aceites se clasifican en naturales, artificiales y sintéticos. Los aceites naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas o químicas y debido a su bajo rendimiento son muy costosos. Betancourt *et al.*, (2011) refieren que los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes. Los sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces obtenidos por procesos de síntesis química, estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes.

.2.6.4 MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales pueden ser extraídos de las muestras vegetales mediante diversos métodos como: expresión, extracción y destilación (Bandoni, 2000; Meireles, 2009).

Expresión: En la expresión el material vegetal es exprimido mecánicamente para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Estos procesos son aplicados a los frutos de los cítricos. Todos los métodos se basan en la ruptura de las glándulas secretoras de aceite y en recolectar en forma inmediata la esencia, para evitar ser absorbida por la corteza esponjosa que resulta después de este tipo de procesos. Por esta razón todas las máquinas que procesan los cítricos cuentan con un sistema de aspersión de agua que moja constantemente la superficie del fruto.

Extracción: Se utiliza cuando el aceite se descompone fácilmente. En estos casos se extrae por disolución o absorción del aceite en disolventes inmiscibles entre ellos o volátiles a través de procesos como maceración, digestión, eufloración o lixiviación.

Destilación: La destilación es un método para separar los componentes de una disolución, el que depende de la distribución de las sustancias entre las fases gaseosas y líquidas y es aplicable a los casos donde todos los componentes se hallan presentes en ambas fases. En lugar de introducir una nueva sustancia a la mezcla, la nueva fase se crea de la solución original por evaporación y condensación. Teniendo en cuenta el procedimiento utilizado durante la destilación este se clasifica en: destilación con agua (hidrodestilación), destilación con vapor directo (arrastre con vapor de agua).

En el presente trabajo se emplearon las dos primeras técnicas de destilación por lo que a continuación se exponen los aspectos más importantes sobre las mismas. De forma general de todos los métodos tradicionales reportados para obtener aceites esenciales a partir de plantas aromáticas los más utilizados son la destilación con agua o hidrodestilación y destilación por arrastre con vapor (Bandonil, 2000).

2.6.5 DESTILACIÓN CON ARRASTRE DE VAPOR DE AGUA

Moreno *et al* (2012) refieren que la extracción por arrastre de vapor consta de elementos y equipos tales como: generador de vapor, extractor, condensador y separador. Esta técnica es muy utilizada a nivel industrial por varias razones: los aceites esenciales están constituidos químicamente por terpenoides y fenilpropanoides compuestos que son volátiles y por lo tanto arrastrables por vapor de agua, tiene un alto rendimiento, se obtiene un aceite muy puro, se puede procesar grandes cantidades del material vegetal y no se requiere utilizar tecnología muy sofisticada.

Jirovetz y Buchbauer (2005), plantean que es el método más usado a nivel industrial, permite obtener AE con buenos rendimientos y además, se pueden procesar grandes cantidades de material vegetal. Este método es una destilación de la mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa

de vapor de agua. Los vapores que salen del cuello de cisne se enfrían en un condensador donde regresan a la fase líquida, los dos productos inmiscibles.

La técnica de MWHD, facilitó la extracción del aceite esencial de las hojas e inflorescencias de *P. auritum*, dado el ahorro de tiempo, el porcentaje de aceite obtenido y su alto contenido de safrol. Al parecer, el método empleado no ocasiona alteraciones significativas a los aceites esenciales. Entre los compuestos orgánicos volátiles presentes en los aceites esenciales analizados por GC-MS, se destaca el alto contenido de safrol (principal compuesto). Las concentraciones de safrol y el rendimiento del aceite, convierte a la especie *P. auritum* en una fuente alternativa de safrol (Sousa, 2007).

2.6.6 PROCESO DE HIDRODESTILACIÓN

Cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor, se le llama “hidrodestilación”. Cuando se usa vapor saturado, pero la materia no está en contacto con el agua generadora, sino con un reflujo del condensado formado en el interior del destilador y se asumía que el agua era un agente extractor, se le denominó “hidroextracción” (Palomino y Cerpa, 1999).

La generación del vapor puede ser local hervidor, remota caldera o interna base del recipiente. Conforme a lo expresado por Poza (2011), el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. Al ser soluble en el vapor circundante, es “arrastrado”, corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador, la mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador, mediante un “cuello de cisne” o prolongación curvada del conducto de salida del hidrodestilador. En el condensador, la mezcla es condensada y enfriada, hasta la temperatura ambiental. A la salida del condensador, se obtiene una emulsión líquida inestable. Este equipo está lleno de agua fría al inicio de la operación y el aceite esencial se va acumulando, debido a su casi inmiscibilidad en el agua y a la diferencia de densidad y viscosidad con el agua. Posee un ramal lateral, por el cual, el agua es desplazada para favorecer la

acumulación del aceite. El vapor condensado acompañante del aceite esencial y que también se obtiene en el *florentino*, es llamado “*agua floral*”. Posee una pequeña concentración de los compuestos químicos solubles del aceite esencial, lo cual le otorga un ligero aroma.

2.7 USO DE LOS ACEITES ESENCIALES EN CUBA

En Cuba, los estudios sobre aceites esenciales se relacionan fundamentalmente con su empleo en las industrias alimentaria y cosmética y en menor extensión, con fines medicinales; aplicaciones relacionadas en muchos casos, con el conocimiento de su uso tradicional por la población para diversos fines. Se han llevado a cabo numerosos estudios de los componentes volátiles de algunas plantas cubanas, pero estos trabajos no abarcan la investigación de las actividades biológicas frente a plagas, ni de la relación composición química-actividad biológica (Pino, Cuevas, Fuentes V. 2008.)

2.7.1 USO DEL ACEITE ESENCIAL DE *P. AURITUM*

Los aceites esenciales (AE) de *Piper* sp, inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes en humanos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*. Los aceites esenciales (AE) de *Piper*, inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes en humanos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *E. coli*, y los hongos (López, 2001).

Según Lee (2004.), los adultos de *S. zeamais*, son capaces de detectar aceites esenciales a través del olfato, la capa del aceite que envuelve los granos después del tratamiento, tiene influencia sobre el comportamiento de los insectos. La toxicidad por contacto e ingestión de diversos aceites esenciales y de sus componentes químicos, mostró que muchos fueron efectivos como alternativa a los insecticidas sintéticos en el control de diversas plagas de granos.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Física de la Facultad de Ingeniería y el Laboratorio de Biología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Cienfuegos, en la provincia de Cienfuegos Cuba durante el período comprendido entre noviembre 2013 a mayo 2014.

Se colectaron insectos adultos de *S. zeamais* (Coleóptera; Curculionidae) en granos de maíz (*Z. mayz* L) provenientes de los almacenes de la Escuela Provincial de Capacitación del MINAG, en Cienfuegos. Los insectos colectados fueron sometidos a un período de cuarentena para asegurarse que no se encontraban enfermos, siguiendo la metodología expuesta por Stock (2004).

La especie a la cual pertenecen los insectos se determinó en el Laboratorio de Entomología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos. Posteriormente se colocaron en frascos de cristal de 1.5 L de capacidad. Para la reproducción de los insectos se le suministraron granos de maíz (*Zea mayz* L.) como alimento y se dejaron reproducir por un término de 3 a 4 meses. Una vez al mes fueron incorporados nuevos lotes de insectos, según metodología propuesta por (Rodríguez et al., 2000).

Una vez transcurrido este tiempo se seleccionaron de la segunda generación, los insectos adultos que se emplearon en los experimentos de laboratorio (Barbosa et al., 2000).

3.1 Evaluación del método óptimo para extraer aceite esencial en hojas de caisimón de anís *P. auritum* , con fines insecticida.

Se realizó una selección de las hojas de plantas de *P. auritum* según los resultados de la prospección realizada por Ortega et al. (2007) esta planta fue certificada por el Jardín Botánico y Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, de la Provincia de Cienfuegos,

colectando 2kg de las mismas en la Finca Arroyo Arenas de Caunao en el municipio de Cienfuegos,

Para determinar el procedimiento a utilizar en la extracción del aceite esencial de hojas de Caisimón de anís *P. auritum* para uso insecticida se utilizaron dos variantes, hidrodestilación y arrastre a vapor. El secado de las hojas de caisimón de anís *P. auritum* Kunth, se efectuó a la sombra, por un período de quince días, evaluando su peso diariamente para lo cual se utilizó una balanza marca Sartorius BSA -124S, hasta que su peso fue constante por tres días consecutivos, según lo establecido en la norma ISO 65-71:84

3.2 Evaluación en condiciones *in vitro* la efectividad técnica del aceite esencial de *P. auritum*, para el control de *S. zemaïs* plaga de granos de maíz almacenados *Zea mayz* L.

Se procesaron hojas sanas de *P auritum*, mediante el método de hidrodestilación, en el cual se utilizó mechero, balón de destilación, condensador con serpentina, ebullidores, mechero, gas licuado, 116g de hojas secas de *P.auritum*, 1000ml de agua destilada. Con el mechero se suministró calor al balón de destilación, generándose vapor de agua, que arrastran los componentes volátiles, condensándose en el refrigerante, pasando al tubo colector graduado, donde se recogió el aceite esencial. Este procedimiento se mantuvo durante 3h, hasta que la destilación no aumentó la cantidad de aceite esencial destilado en un período de 30 minutos dando por concluida la extracción.

Se utilizaron placas petri de 145/20mm en cada una se aplicó 74g de granos de maíz *Z. mays* L. como sustrato y diez insectos de *S zeamaïs* no sexados con previo ayuno de 24h. Se utilizaron cuatro dosis de aceite esencial de *P.auritum* Kunth

Las dosis utilizadas fueron:

1 – 0.2ml	4 – 0.4ml	6 - Testigo
2 – 0.3ml	5 – 0.5ml	7 - Testigo absoluto

3.3 Determinación de la efectividad técnica en condiciones *in vitro* del agua floral resultante del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de *P. auritum* para el control de *S zeamais*

Se utilizaron placas petri de 145/20mm en cada una se aplicó 74g de granos de maíz *Z. mays* L. como sustrato y diez insectos de *S zeamais* no sexados con previo ayuno de 24h. Se utilizaron cuatro dosis de agua floral obtenida del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de *P.auritum* y se aplicaron a dosis de 0.5ml, 0.10ml, 0.20ml, 0.40ml, el testigo absoluto contó con una dosis de 1.25g de *P. auritum* en polvo, las evaluaciones se realizaron a las 24, 48, 72,96, 144 y 216h

Criterio de evaluación

Los resultados de mortalidad fueron corregidos con la formula Abbot modificada (Ciba Gebi 1981.)

$$A - B/AX100$$

Donde:

A=# de individuos muertos en el testigo

B=# de individuos muertos en el tratamiento

Análisis estadístico

Los datos de mortalidad en porcentaje se transformaron en $2 \arcsen \sqrt{p}$, y se procesaron por medio de un análisis de varianza para cada ensayo con un nivel de probabilidad de 5%, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 15 para WINDOW.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación del método óptimo para extraer aceite esencial en hojas de Caisimón de anís *P. auritum*, con fines insecticida.

El análisis se realizó con el objetivo de evaluar el método óptimo para extraer aceite esencial de hojas de caisimón de anís *P. auritum* para uso insecticida, se utilizaron las tecnologías destilación por arrastre a vapor y hidrodestilación, donde difieren significativamente entre ellos los volúmenes de aceite extraído. Por lo que se utilizó el método de hidrodestilación, con este se obtuvo mayor cantidad de aceite destilado ya que en las tres extracciones realizadas por este método no existieron diferencias significativas entre ellas, el aceite esencial extraído de las hojas de *P. auritum* tuvo olor penetrante, característico y un color amarillo claro. La identificación de los componentes del aceite esencial coincidiendo con resultados obtenidos por (Sánchez *et al.*, 2008) En la figura # 1 se muestra el rendimiento de los Métodos utilizados.

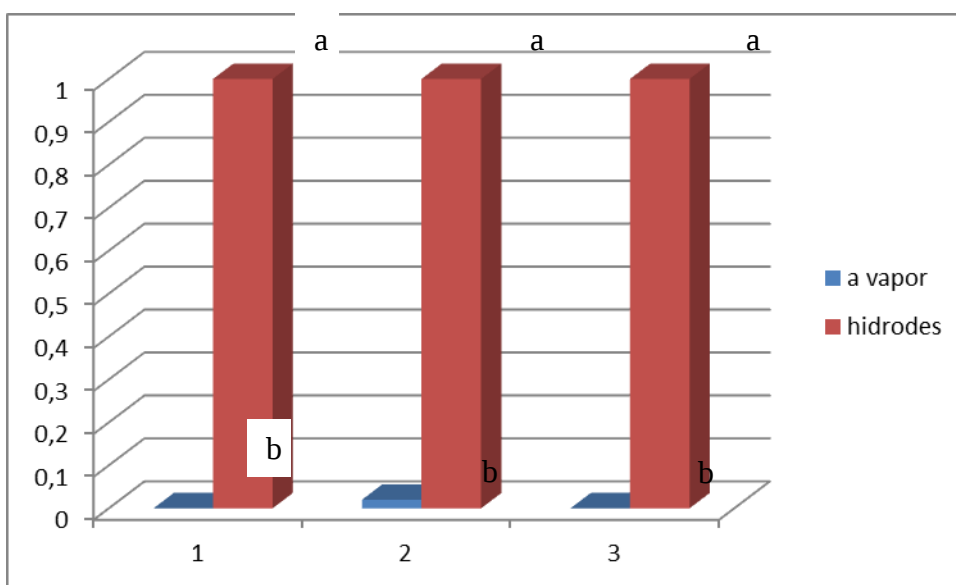


Figura # 1 Rendimiento de los métodos hidrodestilación y arrastre a vapor

*Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

4.2 Evaluación en condiciones *in vitro* la efectividad técnica del aceite esenciales de *P. auritum*, para el control de *S. zeamais* plaga de granos de maíz almacenados *Zea mayz* L.

Con relación a la mortalidad de los insectos *S. zeamais* ante el efecto del aceite esencial de *P. auritum* en los tratamientos a las 24h después de aplicado, las dosis para 0.5ml difiere significativamente con respecto al resto de las dosis, no así las dosis 0.3 y 0.4ml que no difieren entre ella pero si con respecto a 0.2ml y 0.5ml por lo que a las 24 horas todas las dosis ejercieron porcentajes de mortalidad entre 20% y 60% lo cual demuestra la efectividad de los aceites esenciales de *P. auritum* , para el control de *S. zeamais* , La dosis de 0.2ml aunque solo obtuvo un 20% de mortalidad representa un resultado a tener en cuenta, coincidiendo con Meza *et al.*(2008), en los últimos 10 años se ha retomado el interés de buscar opción que fortalezcan el combate a los insectos plagas que atacan a granos almacenados de manera sustentable al utilizar métodos alternativos. (Figura 2)

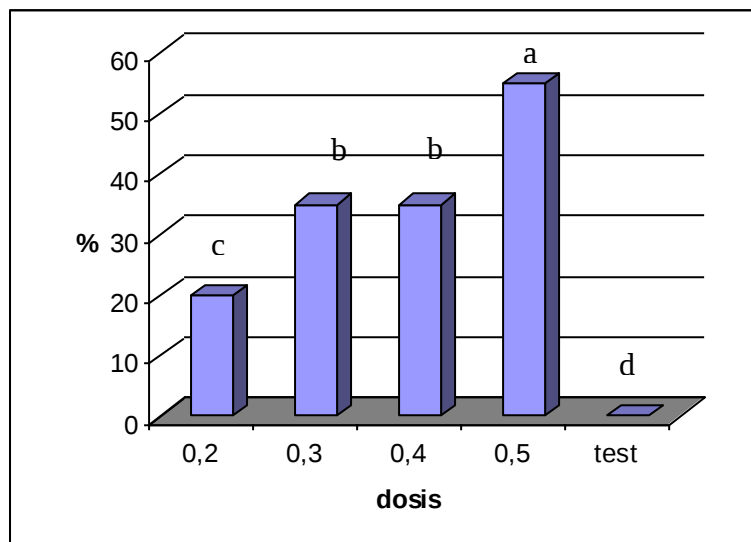


Fig. 2 Porcentaje de Mortalidad de *S. zeamais* con aceite esencial de *Piper auritum* Kunth

La tabla 1 muestra que a las 48 horas de aplicado el aceite esencial a dosis de 0.4 y 0.5ml no tuvieron diferencias significativas, pero difieren significativamente con las dosis de 0.3ml y 0.4ml y estas no difieren significativas entre ellas, al transcurrir las 72 horas no existe diferencias significativas entre las dosis al igual que para las 96 horas y las 120 horas, lo cual demuestra que las dosis de 0.3ml y 0.2ml incrementaron su mortalidad en función del tiempo, lo cual pudo estar dado ya que a menor dosis coincidiendo con *Oleivora et al*,(2004) la concentración de componentes terpenoides, bencénicos, y safrol con probados usos como insecticida pudieron haber disminuido en la acción inicial.

En cuanto a las horas no existió diferencias significativas entre las dosis de 0.5 y 0.4a las 24,48 ,96 y 120 horas y si difieren a las 48h con respecto a las dosis de 0.3 y 0.2.

Tabla 1. Porcentaje de Mortalidad de *S. zeamais* ante el efecto del aceite esencial de *P. auritum* 24 -120 horas.

CONC %	48 horas		72 horas		96 horas		120 horas	
	sen y/p	2arc p transf.	sen y/p	2arc p transf.	sen y/p	2arc P transf.	sen y/p	2arc p transf.
0.5	2.41 a	87	3.11 a	100	3.11 a	100	3.11 a	100
0.4	2.43 a	88	3.11 a	100	3.11 a	100	3.11 a	100
0.3	1.66 b	54	3.11 a	100	3.11 a	100	3.11 a	100
0.2	1.66 b	54	2.96a	99.2	3.11 a	100	3.11 a	100
E.T	0.49		0.53		0.55		0.55	
C.V. %	29.1		22.6		22.8		22.8	

*Letras desiguales difieren para $p < 0.05$ (Lerch, 1977)

La figura 3 muestra después de las 72 horas y hasta las 120 horas que el *aceite esencial de P.auritum* mantuvo efectividad del 100% lo que demuestra que existe un efecto repelente del aceite sobre los insecto adultos; esto se debe a que más del 50% de los insectos se localizan en estado inmóvil, fuera de la zona donde están los granos de maíz mezclados, la efectividad del mismo aumenta en lo que aumenta el tiempo de aplicado, lo que demuestra como las sustancias que libera esta planta afecta considerablemente el normal comportamiento de los insectos. Resultados similares fueron obtenidos por Ramírez (2005), lo cual relaciona el efecto del aceite con el efecto antialimentario en el insecto, coincidiendo con los resultados obtenidos por Salgado *et al*,1999 indican que las plantas pertenecientes a la familia *Piperaceae* presenta efecto de repelencia sobre los adultos de *S. zeamais*



Fig. 3 Efecto repelente e insectistáticos de *P.auritum* sobre *S. zeamas*.

4.3 Determinación de la efectividad Técnica en condiciones in vitro del agua floral resultante del proceso de hidrodestilación del aceite esencial de *P. auritum* para el control de *S. zeamais*

El vapor condensado acompañante del aceite esencial y que también se obtiene la llamada “*agua floral*”. Posee una pequeña concentración de los compuestos químicos solubles del aceite esencial, lo cual le otorga un ligero aroma, semejante al aceite obtenido, por lo que es almacenada como un sub.-producto.

En la Figura 4 se muestra la mortalidad de *S. zeamais* donde se observó que el testigo siempre se mantuvo invariable con cero porcentaje de mortalidad, a partir del tratamiento de 0.30ml se logró una mortalidad del 30 % de los insectos en las primeras horas, que se incrementó hasta las 168h, el agua floral del proceso de hidrodestilación de esta planta causó la muerte al 100 % de los insectos a las dosis de 0.30ml a partir de las 120 horas, en un tiempo inferior a las 72 horas el porcentaje se comportó inferior a 60%. Resultados similares fueron observados por Tripathi (2002), al evaluar la eficiencia de la acción tóxica del agua floral como componente de la hidrodestilación del aceite en el control de plagas de granos almacenados. Dicho autor observó un efecto insecticida en la acción alimentaría de los insectos evaluados durante su ensayo antes de las 72 horas.

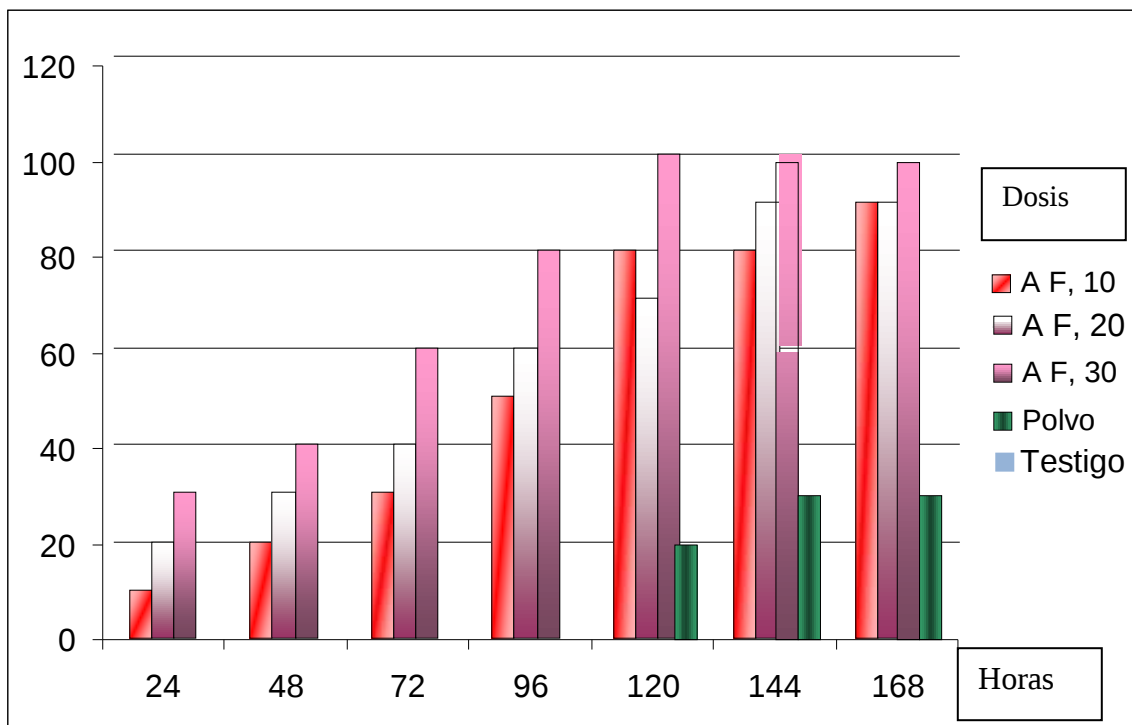


Fig. 4. Porcentaje de Mortalidad de *S. zeamais* ante el efecto del “agua floral”. *Piper auritum* Kunth a las 24 - 216 horas

En la figura 5 se observa el comportamiento del agua floral de *Piper auritum* Kunth, donde se aprecia que los mejores resultados se obtuvieron después de las 120 horas. Esto demuestra que los compuestos existentes en las hojas de esta planta expuestos por, Guisaza (2001), donde refiere que los metabolitos secundarios de plantas con efectos insecticidas, pueden actuar como inhibidores de la alimentación de los insectos, de la síntesis de quitina; también pueden afectar el crecimiento, desarrollo, reproducción y el comportamiento de estos insectos provocando en algunos casos la muerte de los insectos.

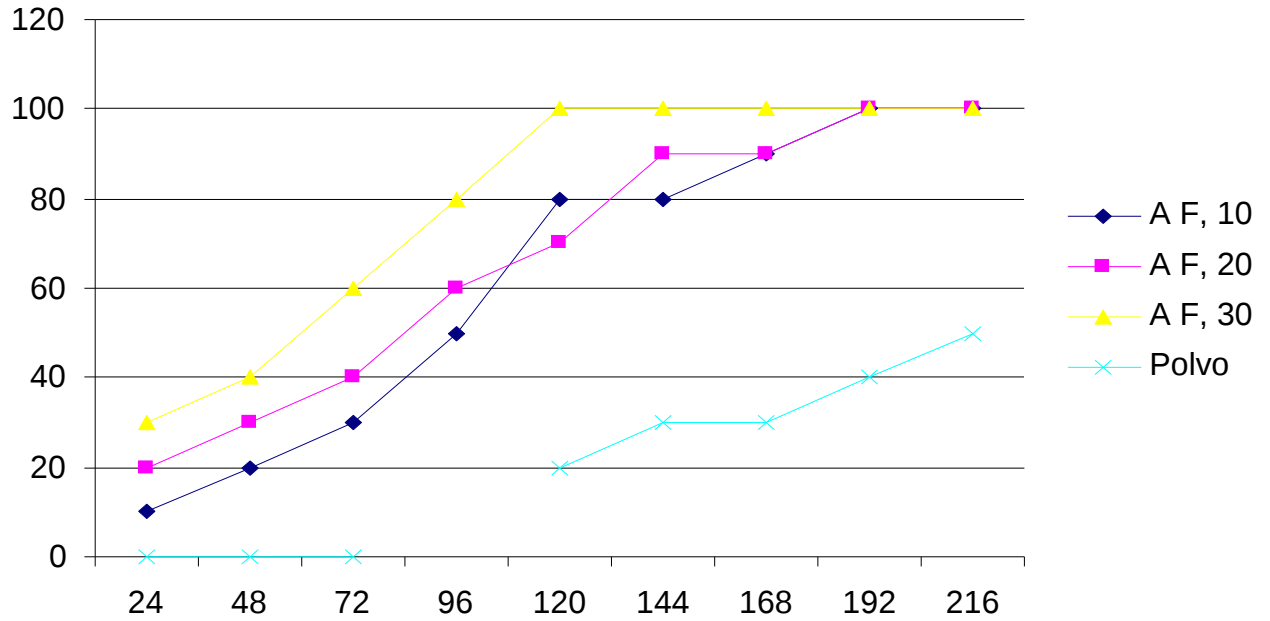


Fig. 5 Tratamiento con el agua floral

En el caso de los tratamiento con agua floral la dosis de 0.30ml fue la que mejor comportamiento tuvo con el mayor porcentaje de mortalidad, la dosis de 0.10ml, aunque comienza con los menores porcentajes de mortalidad después de las 120 horas alcanza valores superiores a 60 %. Estudios realizados sobre el control de *S. orizae* sobre granos de maíz con *P. auritum* por (Agüero 2008; Isman ,2006) plantean que en la búsqueda a los problemas actuales fitosanitarios ha aumentado el uso de los productos naturales los cuales no afectan la germinación de las semillas. En los tratamientos realizados en esta investigación la aplicación del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth no afectó la germinación de las semillas tratadas

Conclusiones

- La mayor cantidad de *aceite esencial de Piper auritum* Kunth se obtuvo por el método de hidrodestilación.
- El aceite esencial fue efectivo en el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky a la dosis de 0.2ml a partir de las 24 horas de aplicado en condiciones in vitro
- El agua floral constituye una alternativa para el control de *S. zeamais* Motschulsky demostrando su efectividad a las 72 horas de aplicada en condiciones in vitro.

Recomendaciones

- 1 Continuar los estudios con el aceite esencial de *Piper auritum* Kunth para el control de plagas de almacén en condiciones de campo, además su efecto sobre la germinación de la semillas, bromatología y propiedades organolépticas.
- 2 Estudiar las dosis mínimas del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth con disolventes para reducir la masa vegetal a utilizar

Bibliografía

- Agunes, A, Rodríguez, C, & Rodríguez, D. (2002). Manejo Integrado de Plagas y Agroecológica, 4 -12.
- Altieri. (1994). *Bases ecológicas para una producción agraria sostenible*. Chile.
- Andrews, L. K, & Quezada, H. R. (1989). *Manejo Integrado de Plagas Insectil es en la Agricultura. Estado actual y futuro*. Honduras, El Zamorano.
- Antonio, L. (1997). *Principais pragas de graos armazenados*. In: *Armazenamento de grao e sementes nas propiedaes rurais*. XXVI Congreso Brasileiro de Engenharia Agrícola Campina Grande. Paraíba : Brasil.
- Armenta A, Camacho J, & Apodaca M. (2008). Control de plagas de granos almacenados con insecticidas biorracionales en el norte de Sinaloa. Retrieved December 1, 2012, from <http://redesus.files.wordpress.com/2008/12/tecnologias-de-granos-y-semillas.pdf>.
- Ava, P.E. (2002). *Utilización de extractos de plantas para el control de gorgojo pardo (acanthoscelides obtectus) en fríjol almacenado*.
- Ayasekara, T.K, Stevenson, P. C, Hall, D.R, & Belmain, S.R. (2005). Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. (pp. 303-313).
- Bernard, C.B. Krishnamurty, H.G. Chauret, D. Durst, T. philogene, B.J.R. Sanchés-Vlndas, P. Hasbaun, et al. (1995). *Insecticidal defenses of iperaceae from the neotropics*. *Journal of Chemical Ecology*.
- Castellanos, L., T. Rivero, A. Pérez, B. Reselló, R. Jiménez, M. Dueñas, et al. (1998). *Manual para el establecimiento de los Manejos Integrados de Plagas en la Provincia de Cienfuegos*. Laprosav.
- Cerutti, M., & F. Neumayer. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. UAEM. Argentina., 7, 149-155.
- Coway, G.R. (1976). *Theoretical ecology : Principle and applications*. Republica de Cuba. Dirección General de Sanidad Vegetal- MINAGRI.
- Cuellar, I, M. León., A. Gómez, D. Piñón, R. Villegas, & I. Santana. (2003). Caña de azúcar paradigma de sostenibilidad. Retrieved February 23, 2006, from <http://www.webcolombia.com/allelopathy.html>.

- Delgado Castellanos, R. (2008). *Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal*. La Habana, Cuba.
- Dobie P. (1984). *Insects and arhchnids of tropical stoncol products. Their biology and identification*.
- Estrada, J. (1995). *Progresos del cultivo del Nim y las investigaciones con insecticidas naturales*. BioPlag 95. Ciudad Habana: (s.n.).
- Estrada, J., & M. T. López. (2000). Los Bioplaguicidas en la Agricultura Sostenible Cubana (p. 6). Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical. Alejandro Humboldt. INIFAT. C. de la Habana.
- Eswaramurthy, S. (1996). *Efficacy of Ipomoea cornea L. in controlling Rice Sheath Rot*.
- Franco, O. (2002). Planta-amylase ihibitors and their interaction with insect a-amylases. (pp. 397-412). European Journal of Biochemistry.
- Gastellum, R, & C Rodríguez. (1996). Empleo de aceites y jabones como alternativas bioracionales para el control de plagas. In *Control Alternativo de insectos plaga*. (pp. 79-88). Fundación mexicana para la educación ambiental A. C. Tepotzotlán. Edo de México. México.
- Grupo Nacional de la Agricultura Urbana. ED ACTAF. Hivos. (2007). *Lineamientos para los subprogramas de la Agricultura Urbana para 2008-2010 y sistema evaluativo*. Ministerio de la Agricultura.
- Hernández, M, V. Fuentes, M. Alfonso, R. Avilés, & F. Perera. (2001). *Plaguicidas naturales de origen botánico*. INIFAT La Habana, Cuba.
- Iannacone, J, & Lamas G. (2003). Efecto toxicológico de extractos de molle (chinus molle) y lantana (Lantana cámara) sobre Chryperla externa (Neuropbera: Chrysopidae), Trichogramma pinto; (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y Capidosoma koehleri (Hymenoptera : Encyrtidae) en el Perú, 347 – 350.
- Irón, L., J. Martínez, D. Amador, & A. Calcares. (2000). Plantas Plaguicidas. In *Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Colombia.
- Isman M B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. (pp. 45- 66).
- Jorqui, J. (2007). *Efecto de tres bioplaguicidas para el control del pulgón (Aphis sp) en el culttivo de lechuga en ambientes protegidos en la ciudad de El Alto*. Trabajo de Diploma en opinión al titulo de Ingeniero agrónomo., Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

- KARR, L.L., & COATS, J.R. (1988a). *Insecticidal properties of d-limonene*. *Journal of Pesticide Science*.
- KARR, L.L., & COATS, J.R. (1988b). *Journal of Pesticide Science*. In *Insecticidal properties of d-limonene* (pp. 287-289).
- Lorenzo. (2013). *Efectividad de formulados a base de extractos de Azadirachta indica Juss., Melia azedarach L. y Eucalyptus sp para el control de tres plagas de almacén*.
- Meza García, J. L, Camacho Báez, J.R, & E Cortes, Mondaca. (2008). El manejo integrado de plagas aplicado a granos almacenados. Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional. Retrieved December 19, 2012, from <http://redesus.files.wordpress.com/2008/12/tecnologias-de-granos-y-semillas.pdf>.
- N.D., S., Lêda Rita D'Antonino Faroni, & Alberto Soto G. (n.d.). Boletín Científico Centro de museos de historia natural aceite esencial de Piper crassinervum para el control de Sitophilus zeamais (coleoptera: curculionidae).
- Ortega, I., L. Castellanos, T. Rivero, C. Martín, & A. Fernández. (2007). *Inventario de plantas repelentes y/o fitoplaguicidas en las unidades de la agricultura urbana de la provincia Cienfuegos*.
- Pascual, M. (n.d.). *Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de Tribolium castaneum Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae)*. España.
- Pino O, Sánchez Y, Rodríguez H, Correa T.M, Demedio J, & Sanabria J.L. (n.d.). *Protección Vegetal* (Vol. 26).
- Ramírez. (2004). *Manual de Bioplaguicidas Tecnología Para Protección de Cultivos*. (Segunda Edición.). La Paz, Bolivia.: Topaz Creaciones Gráficas.
- Ramírez, S. (2005). *Plantas con acción repelente e inhibitoria de la reproducción de Zabrotes subfasciatus (Bohemann) (Coleoptera; Bruchidae)*. Tesis de Diploma no publicado, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.
- Roig, J.T. (1988). *Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba*. Editorial Científico-Técnica.
- Sánchez, Y, Correa M T, Abreu Y, Martínez B, & Duarte Y. (2011). *Protección Vegetal*., 26, 61.
- Saralegui H, Jreuter W, & Rankin R. (2004). *Plantas vasculares. Flora de la República de Cuba*.
- Tripathi, A.K. (2002). Bioactivities of the leaf essential oil of Curcuma longa (var. ch-66) on three species of stored-product beetles (Coleoptera). *Journal of Economic Entomology*. (pp. 183-189).

Vázquez, L. (2003). *Agroecología y agricultura sostenible y orgánica. Manejo agroecológico de Plagas. Integración del Control Biológico.*

Vázquez, L., Chong, P. A., & Pérez, C. (1981). *Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal.* Ministerio de la agricultura.

Vélez, A. R. (1997). *Plagas Agrícolas de Impacto Económico en Colombia.*, 480.