

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



**Efecto Insecticida de Metabolitos Secundarios de orégano
(*Origanum vulgare*) Sobre *Tribolium castaneum* (Herbst).**

Por:

TOMÁS MALDONADO SALGADO

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Mayo 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efecto Insecticida de Metabolitos Secundarios de orégano
(*Origanum vulgare*) Sobre *Tribolium castaneum* (Herbst).

Por:

TOMÁS MALDONADO SALGADO

TESIS

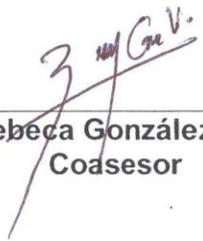
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:

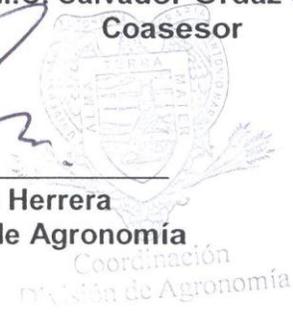


Dr. Mariano Flores Dávila
Asesor Principal


M.C. Rebeca González Villegas
Coasesor


M.C. Salvador Ordaz Silva
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México.
Mayo 2012

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por enseñarme el buen camino de la vida. Por darme la oportunidad de disfrutar mi carrera y por todos los buenos y malos momentos en mi estancia en la universidad y por darme el privilegio de conocer a muchas buenas personas y amigos.

A la **Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro"** por brindarme el apoyo necesario para terminar mi carrera y formarme como persona.

A **LA M.C Róbica González Villegas** por brindarme su apoyo y amistad por la paciencia que siempre me tuvo por todos los consejos que reflejaban el interés y preocupación por nuestro aprendizaje y por ser esa persona en la que siempre puedo contar gracias.

A **Dr. Mariano Flores Dávila** por haber aceptado ser parte de este jurado y ser parte de esta investigación.

A **M.C Salvador Ordaz Silva** por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

A **todos mis maestros de la universidad** que me brindaron su apoyo y conocimientos para poderme formar como profesionalista.

A **todos los que me brindaron su amistad y que en todos los momentos de felicidad y tristeza estuvieron apoyándome sin condiciones que su tiempo me lo dedicaron solo por amistad y aprecio.**

DEDICATORIA

A mis padres:

Ángela Salgado García
Carlos Maldonado Gómez

Por estar conmigo en todo momento de la vida, por todos sus consejos, por la gran paciencia que me tuvieron en mi estancia en la universidad, por el esfuerzo de cada uno de ustedes que ahora se ve reflejado con el término de mi licenciatura y sobre todo por el gran cariño y amor que ustedes me daban ya que era mi motoreito de empuje para no rendirme y lograr mi meta por haberme enseñado con ejemplos de vida y consejos el valor de la humildad, amistad y sencillez y por enseñarme el valor de nunca rendirme.

A mis hermanos:

Juan Carlos, Teodoro Y Manuel por haberme apoyado en cada momento que los necesitaba, por la preocupación de mis necesidades en la narro, por brindarme ese amor y cariño y por ser tan buenos hermanos.

A mis hermanas:

Lorena, Adriana, Elizabeth y Gabriela por brindarme su apoyo, cariño y comprensión por estar siempre en los momentos más importantes de mi vida y por que nunca me hicieron sentir solo en todo este tiempo en que concluí mi carrera, que Dios las bendiga.

A mi tío Víctor:

Por todos sus consejos y dedicación para mi persona por enseñarme que el camino de la vida es difícil pero no imposible. Por darme el ejemplo a respetar y escuchar a las personas y por darme a entender que el orgullo puede ser un gran obstáculo pero que se puede vencer y por darme ese cariño, amor y comprensión gracias tío.

¶ mi cuñado:

Fidel Brito te doy las gracias por ser parte de esta familia gracias por el apoyo que me diste eres una gran persona te admiro y te respeto Dios te bendiga amigo y cuñado.

¶ mis abuelos:

Perfeto Salgado Adamo
Cointa García Gonzalez
Anselmo Maldonado Romero
Bruna Gómez Gómez

Por qué siempre me brindaron su apoyo de alguna manera y siempre estuvieron conmigo en los momentos más difíciles de mi carrera gracias.

¶ toda mi familia:

Tíos, primos, gracias por su apoyo durante mi carrera.

¶ mis amigos:

Que me brindaron su apoyo y gratitud porque de alguna manera algún día dejamos de ser amigos y fuimos una familia cuando más nos necesitábamos.

INDICE DE CONTENIDO

	Pag
AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIAS	V
ÍNDICE GENERAL	VI
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
RESUMEN	X
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO	2
HIPÓTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Importancia de las plagas de granos y productos almacenados.....	3
Origen y evolución de los insectos de almacén.....	3
Infestación de Granos.....	4
Clasificación y Distribución de las plagas.....	4
Gorgojo castaño de la harina (<i>Tribolium castaneum</i> (Herbst)).....	6
Origen y distribución.....	6
Ubicación taxonómica.....	6
Descripción morfológica	6
Ciclo de vida.....	7
Biología y hábitos.....	7
Importancia Económica <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	7
Métodos de control de <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst).....	8
Métodos físicos	8
Control biológico.....	10
Control alternativo.....	12
Extractos vegetales.....	14
Importancia de los extractos.....	14
Tipos de extractos vegetales.....	15
Antecedentes de plantas con principio activo.....	17
Polvos vegetales.....	17

Aceites.....	18
Generalidades del orégano.....	19
Composición química del orégano.....	19
Metabolitos secundarios del orégano.....	20
Timol.....	20
Antecedentes.....	20
Aplicaciones.....	20
Carvacrol.....	21
Antecedentes.....	21
Aplicaciones.....	22
Usos del orégano.....	22
Potencial Antimicrobiano.....	22
Efecto antiparasítico.....	24
Acción Estrogénica.....	24
Capacidad antigenotóxica.....	25
Usos y aplicaciones industriales.....	26
Actividad insecticida.....	27
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Ubicación del experimento.....	28
Obtención de los productos.....	28
Incremento de las colonias de <i>T. castaneum</i>	28
Bioensayo.....	29
Técnica de película residual.....	29
Análisis estadístico.....	29
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	30
Efecto a través del Tiempo.....	30
CONCLUSIONES.....	34
LITERATURA CITADA.....	35

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag
1	Porcentaje de mortalidad de <i>Tribolium castaneun</i> después de la aplicación del timol.....	30
2	Porcentaje de mortalidad de <i>Tribolium castaneun</i> después de la aplicación del carvacrol.....	32
3	Análisis Probit (Concentración letal al 50 y 95 % de la población y límites fiduciales).....	33

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pag
1	Porcentajes de mortalidad de <i>Tribolium castaneum</i> por efecto del metabolito secundario timol.....	31
2	Porcentajes de mortalidad de <i>Tribolium castaneum</i> por efecto del metabolito secundario carvacrol.....	32

RESUMEN

A partir de la necesidad por encontrar nuevas alternativas para el control de insectos plagas y remplazar los pesticidas sintéticos aparecen el uso de los insecticidas vegetales ofreciendo seguridad para el medio ambiente y una eficiente opción agronómica. El uso de extractos naturales para el control de plagas de importancia agrícola es cada vez mas aceptado debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no provoquen efectos deletéreos para la salud humana. A base a esto se realizó trabajo con el objetivo de Determinar el efecto insecticida de los metabolitos secundarios del orégano (timol y carvacrol) sobre *Tribolium castaneum* bajo condiciones de laboratorio. Se emplearon concentraciones de 2,000, 4,000, 6,000, 8,000 y 10,000 del timol y carvacrol mostrando el mejor efecto insecticida sobre adultos de *T. castaneum* el timol con un 100 % de mortalidad en la población con un concentración de 10,000 ppm a 72 hrs el carvacrol con un 86.6 % de mortalidad en la población a una concentración de 10.000 ppm a 72 hrs.

La purificación y empleo de los metabolitos secundarios de plantas, han mostrado buenos resultados, en el caso de timol y carvacrol muestran altos porcentajes de mortalidad a través del tiempo, lo cual demuestra que pueden ser empleados para el control de *Tribolium castaneum* en laboratorio.

Se recomienda hacer mas pruebas con la finalidad de observar la persistencia de los metabolitos secundarios bajo condiciones de almacén para el control de estos insectos, debido a que puede ser modificado el efecto por el medio ambiente.

Palabras clave: Mortalidad, timol, carvacrol, *T. castaneum*

INTRODUCCIÓN

El uso de productos naturales para el control de plagas de importancia agrícola es cada vez mas aceptado debido a la necesidad de emplear compuestos eficaces que no dañen el medio ambiente (Clemente, 2000). Existen antecedentes de plantas de las zonas desérticas de México, en esta descripciones se menciona una gran cantidad de plantas con potencial de exploración para diversos usos, tales como aprovechamiento de sus fibras, potencial alimenticio o forrajero, conocimiento de sus propiedades medicinales y toxicológicas de ganado como las obras de Martínez (1994).

En la agricultura del nuevo milenio se deben establecer nuevas alterativas de control que tengan un menor impacto ambiental y que permitan reducir significativamente el uso de plaguicidas, los cuales, debido a su elevado costo, representan una limitante para los productores (Guevara *et al.*, 2000).

La investigación sobre insecticidas vegetales puede tener dos vertientes: una es la de la agricultura de subsistencia, que procura buscar la independencia del agricultor, proporcionándole alternativas de combate de plagas mediante el uso de plantas de su mismo medio; la otra consiste en buscar entre las plantas silvestres nuevas moléculas con propiedades insecticidas con el potencial de originar una nueva familia de insecticidas que pudiesen llegar a sintetizarse en laboratorios, como ha ocurrido con los piretroides y los carbamatos, que son derivados sintéticos de moléculas aisladas de plantas como piretro, (*Tanacetum cinerariaefolium*) y el haba de calabar (*Physostigma venenosum*), respectivamente (Silva *et al.*, 2002).

Los cereales son considerados mundialmente como las especies vegetales más importantes para la alimentación de los seres humanos y animales domésticos. Por esto, su almacenamiento por largos períodos de tiempo es esencial para disponer de alimento en forma constante. Lamentablemente, esto se ve entorpecido por los insectos plagas de los granos almacenados, que causan cuantiosas pérdidas,

tanto en lo económico como en su disponibilidad para la alimentación de animales y seres humanos (Larraín, 1994). Esto se magnifica en el caso de pequeños agricultores, ya que no cuentan con la suficiente información y tecnología, para realizar un manejo de postcosecha que minimice el daño causado por estas plagas.

Los métodos de control de plagas en granos almacenados son de muy variada naturaleza. Existen desde técnicas altamente sencillas, como el uso de temperaturas extremas y otros métodos físicos como inertes y envases herméticos, hasta el uso de insecticidas sintéticos y atmósfera controlada. Lamentablemente, muchas de estas técnicas no están al alcance de los pequeños agricultores, ya sea por su costo o por el riesgo que pueda implicar el uso inadecuado de ellos. En vista de esto, muchas veces los agricultores recurren a elementos disponibles en su medio (Silva *et al.*, 2001).

Objetivo

- ✓ Determinar el efecto insecticida de los metabolitos secundarios del orégano (timol y carvacrol) sobre *Tribolium castaneum* bajo condiciones de laboratorio.

Hipótesis

- ✓ Se espera que al menos uno de los metabolitos secundarios del orégano empleados en el presente trabajo muestren efecto insecticida sobre los adultos de *Tribolium castaneum*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia de las plagas de granos y productos almacenados.

A nivel mundial los insectos que infestan productos almacenados se encuentran agrupados en 227 especies, de las cuales 66 han registrado su presencia en México, causando pérdidas entre 15 y 25 % dependiendo de la región (Nájera, 1991). La distribución de estas plagas se ha debido al creciente intercambio comercial de granos y semillas y sus subproductos (Ramírez, 1996).

Origen y evolución de los insectos de almacén.

Se cree que los insectos de almacén hacen su aparición en la era neolítica, cuando el hombre comienza a criar animales domésticos, cultivar plantas y a almacenar regularmente cereales en el octavo milenio a.c. Se asume que las especies conocidas hoy como plagas de almacén fueron desarrolladas primeramente en hábitats naturales y después se trasladaron o fueron trasladadas a los lugares de almacenaje, ya que éstos les proporcionaban condiciones adecuadas para su desarrollo. Algunas especies de insectos actualmente asociados con los productos almacenados han sido encontrados en tumbas del antiguo Egipto, tales como *Tribolium* spp. y *Sitophilus granarius* alrededor del 2300 a 2500 a.C.

En México se han realizado algunos estudios sobre pérdidas postcosecha; en el Bajío, se encontró un 63 % del maíz almacenado infestado con plagas durante varios meses (Tigar *et al.*, 1994a). Estudios en regiones de clima húmedo reportaron que la presencia de plagas superó el 80 %, por lo que fue la primera causa de pérdidas en grano almacenado, mientras que en el Altiplano se encontró entre un 20 y un 30 % de infestación (Torres, 1995).

Infestación de Granos.

Existen diferentes formas de que los granos sean infestados; la mayoría de las veces, la infestación ocurre en el campo, al ser atacado el grano antes de la cosecha (Ramírez, 1996). En otras ocasiones los insectos son capaces de volar a ciertas distancias desde el campo hasta el almacenaje del grano y viceversa (Williams y Floyd, 1990).

Otra causa de infestación por insectos es cuando permanecen granos o desperdicios infestados de un año otro en los mismos almacenes, lo que ocasiona que al momento de almacenar el grano nuevo en esos lugares se presente fácilmente una infestación (Pérez, 1988).

El exceso de humedad en granos y semillas almacenados causa pérdidas importantes en la producción de los semilleros.

Normalmente, la semilla proveniente de la cosecha directa contiene una humedad muy alta (superior al 30 %), lo cual atenta contra su buena conservación y basta que se encuentre pocas horas embolsado o a granel para que el poder germinativo y el vigor de las plántulas se vean seriamente afectados por ello. Si bien, la mayoría de las semillas alcanzan la madurez fisiológica con contenidos de humedad variables entre 35 y 45 %, su conservación es segura siempre y cuando estos porcentajes desciendan hasta un 10-12 %.

De lo contrario, se producirá una serie de procesos desfavorables entre los que deben destacarse la elevación de la temperatura, aumento en el ritmo respiratorio, apelmazamiento y predisposición al ataque de plagas y enfermedades fúngicas (Torres, 1995).

Clasificación y Distribución de las plagas.

Los insectos que se alimentan de granos por lo general son clasificados en tres categorías (Ramírez, 1990):

Plagas primarias: son insectos que tienen la capacidad de romper la cubierta externa de los granos y penetrarlos o también pueden ovipositar sobre el grano y al emerger la larva ésta perfora y se alimenta de la semilla como son; *Sitophilus zeamais* Mitchulsky (L), *Sitophilus orizae* (L), *Sitophilus granarius* (L), *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Zabrotes subfasciatus* (Bohemian), *Prostephanus*

truncatus (Horn), *Rhyzopertha dominica* (F), *Plodia interpunctella* (Hubber) (Gutiérrez, 1992).

Plagas secundarias: son insectos que se desarrollan después de existir el daño en el grano por plagas primarias, normalmente se alimentan de harina y granos rotos y/o perforados por plagas primarias. Como son; *Tribolium castaneum* (Herbst), *Tribolium confusum* (Duval), *Orizaephillus surinamensis* (L), *Cryptolestes pusillus* (Schonherr) (Gutiérrez, 1992).

Plagas terciarias: se desarrollan después de que los insectos primarios y secundarios han efectuado su daño, se alimentan de impurezas, granos quebrados, residuos dejados por los otros insectos y algunos se alimentan de los hongos desarrollados en el grano que se ha deteriorado. Por lo tanto se considera a *Sitophilus zeamais* como una plaga primaria (Ramírez, 1990).

Gorgojo castaño de la harina (*Tribolium castaneum* (Herbst))

Origen y distribución

Se dice que *Tribolium Castaneum* es un insecto de origen Indo-Australiano con un hábitat cosmopolita, aunque generalmente es un insecto de climas calientes (Mallis, 1990).

Ubicación taxonómica

Tribolium castaneum, mejor conocido como gorgojo rojo de las harinas, fue clasificado y descrito en 1797, es conocido desde hace muchos años antes que el *Tribolium confusum* (Arias, 1985). Borrór *et al.*, (1964), determinaron su posición taxonómica en la forma siguiente:

Reino.....Animal
Phylum.....Arthropoda
Clase.....Insecta
Orden.....Coleóptera
Familia.....Tenebrionidae
Genero.....*Tribolium*
Especie.....*T. castaneum* (Herbst)

Descripción morfológica

El adulto mide de 3 a 3.7 mm de largo, es aplanado y de color café rojizo. La cabeza, el tórax y el abdomen son diferenciales; las antenas están bien desarrolladas y los 3 últimos segmentos se ensanchan bruscamente, siendo más anchos y largos que los anteriores. Este carácter es el que lo distingue de *Tribolium confusum*, en el que los segmentos van incrementándose gradualmente desde la base hasta la punta. Las larvas son gusanos delgados de color amarillo pálido, los segmentos presentan pelos finos, y el segmento terminal posee un par de espinas como pequeños apéndices. Las larvas al completar su desarrollo miden 4.5 mm de largo. Las pupas son de tipo exarata de color amarillo crema de unos 2 mm de largo.

Ciclo de vida

La hembra deposita los huevecillos aisladamente en la harina o subproductos. Los huevecillos son pequeños, delgados, cilíndricos y de color blanquizco. Una sola hembra produce en promedio 450 huevecillos. El periodo de incubación varía de 5 a 12 días, dependiendo de la temperatura, después de lo cual nace la larva. El desarrollo larvario varia de 1 a 3 meses de acuerdo a la temperatura y disponibilidad del alimento. La pupa es desnuda, al principio de color blanco, tornándose gradualmente en amarillenta; tiene en la superficie dorsal haces de pelos al igual que las larvas. En estado de pupa tarda de 6 a 9 días, transformándose después en un gorgojo adulto (Metcalf y Flint, 1976).

Biología y hábitos

La hembra deposita sus huevecillos cerca de los alimentos, de preferencia en ranuras cerca de las tapas de las cajas de cartón, o en algún sitio protegido similar, siendo comúnmente puestos en grupos de 60 huevecillos. Los huevecillos eclosionan una o dos semanas después de ser puestos, las larvas son de cuerpo suave y atacan a los granos quebrados y las harinas, después de unos 70 a 90 días pasan a estado de pupa, donde pueden invernar o pasar a estado adulto para completar una nueva generación (Metcalf y Flint, 1976).

Importancia Económica *Tribolium castaneum* (Herbst)

La importancia de las pérdidas de los productos almacenados es variable, en cuanto a los cereales a nivel mundial se ha reportado pérdidas del 20 % por *T. castaneum*, que se considera como la especie plaga más importante de harinas almacenadas. Varios autores mencionan que la presencia de dos larvas de *T. castaneum*/kg de harina representa pérdidas del 18 %.

Métodos de control de *Tribolium castaneum* (Herbst)

Desde la antigüedad se han desarrollando métodos de control para combatir y erradicar las plagas de almacén que han sido una gran molestia para los pequeños y grandes almacenadores, los cuales han realizado diferentes métodos de control. Donde han incluido medidas físicas, químicas, biológicas, y últimamente se han creado nuevos compuestos de origen vegetal con menos impacto en el ambiente llamados biorracionales.

Métodos físicos

Temperatura: Las temperaturas extremas son usualmente las más utilizadas como método de control físico ya que los insectos no pueden desarrollarse y reproducirse bajo los 13°C y sobre los 35°C (Fields and Muir, 1996). Dentro de la agricultura tradicional una práctica común es la exposición del grano al sol debido a que los insectos no toleran las elevadas temperaturas (Lindbland y Druben, 1979). Un ejemplo del uso de las bajas temperaturas se da en lugares de otoños e inviernos fríos donde se exponen las semillas al ambiente debido a que las bajas temperaturas reducen la tasa de desarrollo, la alimentación, fecundidad y porcentaje de supervivencia de los insectos (Fields and Muir, 1996).

Radiación: Se han utilizado radiaciones de varios tipos con la finalidad de evitar o reducir las infestaciones de insectos plaga de los granos almacenados (Araya, 1993). La radiación gamma con cobalto 60 como fuente radiactiva es el método más común para irradiar alimentos pudiendo penetrar alimentos sólidos entre 25 a 50 mm (Aguilera, 1991). Según Fields and Muir (1996), para desinfectar granos o harina se necesitan concentraciones entre 0.2-1.0 kg y aunque hacen la aclaración que estas concentraciones no matan a toda la población pero los pocos sobrevivientes tendrán menor actividad fágica y sin lugar a dudas serán estériles.

Almacenamiento hermético: En un recipiente completamente hermético los insectos plaga que pudiera haber en el grano mueren por falta de oxígeno (Hall, 1980). En algunos lugares los agricultores almacenan los granos en depósitos subterráneos y secos que pueden resultar completamente herméticos (Lindbland y Druben, 1979). Aunque cabe señalar que este método presenta la desventaja que las

semillas que quedan cerca de las paredes se humedecen dando lugar a la formación de hongos y alterando su sabor.

Sonido y Percusión. Ciertos estudios han demostrado que el número de larvas nacidas de huevos de *Plodia interpunctella* puestos durante una exposición de cuatro días a ondas acústicas amplificadas será cuatro veces menor que en el caso de huevos no expuestos a ellas. A su vez se ha comprobado que un golpe brusco o percusión mata las fases de los insectos existentes en los productos almacenados e incluso los huevos depositados en el interior de los granos de cereales (Hall, 1980).

Polvos Inertes: Entre los métodos físicos de combate de insectos plaga de los granos almacenados se encuentran algunas prácticas de la agricultura poco tecnificada que aprovechan los recursos disponibles del medio como herramientas de control (Stoll, 1989). Así es como una gran cantidad de polvos inertes, cenizas y arenas finas, se han mezclado con el grano de manera tradicional como barrera física contra el daño por insectos (D'Antonio, 1997).

Estos polvos minerales, comúnmente llamados polvos inertes tienen un efecto abrasivo o bien absorben los lípidos que forman la superficie exterior de la cutícula de los insectos, facilitando una pérdida de agua que conduce a la muerte por deshidratación del insecto (Luca y Pinçao, 1995; Subramanyan y Roesli, 2000).

Según Golob *et al.*, (1981), todos los polvos minerales disminuyen la infestación de las plagas pero la efectividad está directamente relacionada con la dosis. Este antecedente es avalado por Permual y Le Patourel (1990) quienes además indican que una dosis de 5 g por kilogramo de grano reduce considerablemente la F1 de todas las especies evaluadas. Otro ejemplo se encuentra en Aldryhim (1990), donde un polvo de sílice disminuyó la progenie de *Tribolium confusum* y *Sitophilus granarius* en un 60 %. En América Latina también existen algunos antecedentes sobre el tema, por ejemplo González y Lagunés (1986), encontraron que después de 65 días de almacenamiento el maíz tratado con cal y ceniza volcánica al 1 % mostraron menores infestaciones que el testigo. A su vez Páez (1987) con esta misma ceniza a una concentración del 1 %, obtuvo una progenie de *Sitophilus zeamais* un 50 % menor al testigo. Como se puede ver este es un método de control que se muestra muy promisorio y que sin lugar a dudas merece con ser estudiado con mayor profundidad.

Tierra de Diatomeas: La tierra de diatomeas son los exoesqueletos de algas petrificadas en los fondos marinos. El exoesqueleto posee en su estructura abundante en sílice extraído del agua (Allen, 2001). Estas estructuras, de tamaño microscópico, están formadas por cristales de bordes irregulares y filosos los cuales al rasgar el integumento del insecto causan su muerte por deshidratación de tejidos (Korunic, 1998). La tierra de diatomeas ha demostrado ser efectiva para el control de plagas de granos almacenados, evitando así el deterioro y pérdida del valor comercial de los mismos (Scholl, 1998). La muerte de los insectos ocurre aproximadamente 12 horas después de haber tomado contacto con el producto. Se utiliza en una concentración del 0,6 % al 1 % (p/p) y ha mostrado un efecto protector de entre 7 y 12 meses respectivamente (Korunic, 1998).

Atmósfera modificada: La atmósfera modificada ofrece una alternativa al uso de los fumigantes químicos residuales para controlar plagas de los granos almacenados. Este método ha sido usado por los humanos durante siglos (González, 1995) y de hecho el almacenamiento hermético es un tipo de atmósfera modificada (Banks y Fields, 1995) ya que crea un ambiente rico en dióxido de carbono y bajo en oxígeno (White and Leesch, 1996).

Según estos últimos autores, este método de control presenta ventajas como la no contaminación de la atmósfera y es seguro para los aplicadores, no deja residuos dañinos y las alteraciones organolépticas del grano son mínimas. Pero, también presenta desventajas como por ejemplo que se necesita un determinado tiempo para que produzca su efecto, el CO₂ no puede ser usado con facilidad debido a que en su forma de uso carbónico causa trastornos en el sabor y se requiere un monitoreo permanente. Estudios de laboratorio muestran que el CO₂ tiene un mayor efecto biosida que el N₂ y aunque su modo de acción no ha sido aún determinado con exactitud este le es atribuido a interacciones a nivel del cerebro, procesos metabólicos, sistema endocrino, respiratorio y circulatorio de los insectos (Banks y Fields, 1995).

Control biológico

El control biológico fue definido en 1987 por la Academia Nacional de Ciencias (NAS por sus siglas en inglés) de Estados Unidos como el uso de organismos

naturales o modificados, genes o productos genéticos que reducen el efecto de organismos indeseables (plagas) y favorece a organismos útiles como cultivos, árboles, animales e insectos benéficos y microorganismos (García, 1990). Según Brower *et al.* (1996), el uso del control biológico en granos almacenados presenta muchas ventajas como es que la liberación de los enemigos naturales en ambientes confinados los protege de las condiciones adversas del clima, además que los agentes controladores que sobreviven hasta las últimas etapas del almacenamiento no son dañinas como pueden llegar a serlo los residuos de plaguicidas, no se conoce resistencia por parte del insecto plaga (huésped) y no ponen en peligro a los operadores que realizan la aplicación (liberación en este caso). Aunque también estos autores señalan algunas desventajas como por ejemplo que los enemigos naturales son muy específicos y actúan lentamente además de que se requiere de infraestructura permanente para su reproducción y su éxito puede requerir liberaciones demasiado frecuentes lo cual podría producir que el grano se pueda contaminar por la presencia de los restos de los insectos muertos producto de las múltiples liberaciones. El uso de enemigos naturales para el control de plagas de los granos almacenados puede ser con insectos depredadores o parasitoides.

Depredadores: Una amplia variedad de depredadores atacan a plagas de los granos, semillas y productos almacenados en general (Brower *et al.*, 1996). Sin lugar a dudas los dos órdenes más importantes son Coleóptera y Hemíptera. Las familias más importantes de coleópteros depredadores son Carabidae, Staphylinidae e Histeridae pero los depredadores más comúnmente encontrados en productos almacenados son los chinches de la familia Anthocoridae y específicamente *Xylocoris flavipes*. Antecedentes reportados por Brower *et al.*, (1996), indican que este depredador después de 16 semanas fue capaz de disminuir en un 97 a 99 % la población de *Oryzaephilus surinamensis*, en un 97.6 % la de *Tribolium casteanum* y en un 78.8 % la de *Plodia interpunctella*.

Parasitoides: La mayoría de los parasitoides que atacan plagas de los granos almacenados son del orden Hymenoptera. Según Brower *et al.*, (1996), los parasitoides en este contexto se pueden dividir en aquellos que parasitan a plagas que se alimentan del interior del grano y aquellas que atacan a las que se alimentan de la parte externa.

De las primeras se destacan algunos Pteromalidos como *Anisopteromalus calandrae* (Howard), *Lariophagus distinguendus*, *Pteromalus cerealellae* y *Theocolax elegans*. *Anisopteromalus calandrae* y *Theocolax elegans* reducen la población de *Sitophilus zeamais* Motshulsky en un 25 a 50 % en maíz almacenado. En el caso de aquellos que parasitan plagas externas al grano Brower *et al.*, (1996), menciona a *Trichogramma pretiosum* y *Trichogramma evanescens* quienes atacan a los diferentes estados inmaduros de estas plagas pero especialmente huevecillos. A su vez también se destaca el braconido *Bracon bebetor* Say que parasita larvas de varias polillas como por ejemplo *Plodia interpunctella* en la que reduce la emergencia en un 74 % y en un 97 % en *Ephestia cautella*.

Control alternativo

Las tendencias actuales en el manejo integrado de plagas se orientan hacia la preservación del ambiente junto al uso de biocidas naturales (bioplaguicidas) con una menor toxicidad. Entre esos productos se encuentran los aleloquímicos de origen vegetal, semioquímicos de comunicación química interespecífica que no generan fenómenos de resistencia ni ejercen el impacto ambiental de los insecticidas de síntesis; siendo compatibles con otras opciones de bajo riesgo aceptables en el control de insectos. Así mismo, se encuentran los extractos vegetales que atacan una gran variedad de plagas y enfermedades. Dentro de estos compuestos se encuentran los aceites de origen vegetal que se presentan como una alternativa de control de alto potencial (Flint *et al.*, 1996).

Aceites: Los aceites que se utilizan en el control de plagas de granos almacenados, pueden ser de origen vegetal o mineral. Ninguna de estas alternativas tiene problemas para ser utilizada en un programa orgánico de producción.

Aceites minerales: En relación a los aceites minerales, estos se conocen desde hace más de un siglo, y se han empleado solos o en combinación con insecticidas para el control de artrópodos plagas de cuerpo blando en árboles frutales. A la fecha, no se ha reportado ningún tipo de resistencia. La principal actividad de los aceites, es por la obstrucción del sistema respiratorio (hipoxia), además de actuar como repelentes en la ovoposición (Davidson, *et al.*, 1991).

Varias clases de artrópodos son afectados con el uso de estos aceites, pudiéndose mencionar: ácaros, escamas, chinches harinosas, psílicos, áfidos y algunos lepidópteros. Sin embargo estos aceites poseen una baja actividad residual, son relativamente inocuos a los organismos benéficos. Los factores que explican la actividad insecticida en la formulación de los aceites son: la composición química, parafina (C_nH_{2N+2} , óptimo peso molecular, $C_{20}-C_{25}$), compuestos insaturados y el equivalente del número de carbonos de n-parafina. Para minimizar el daño con la aplicación de los aceites en aspersion, se recomienda evitar dicha aplicación cuando los árboles presenten algún tipo de estrés o cuando las temperaturas sean demasiado altas o muy bajas (Davidson, *et al.*, 1991).

Los aceites minerales constituyen un método de control físico confiable, que aún hoy, sigue evolucionando. Son eficientes en la horticultura por tener una efectiva acción insecticida en las aplicaciones llevadas a cabo en los programas de manejo integrado de plagas.

Aceites vegetales: Los aceites de origen vegetal han sido utilizados desde épocas muy antiguas, presentando los primeros registros de control de diferentes insectos a nivel doméstico y de agricultura de subsistencia desde el siglo XV. Se han propuesto varias explicaciones para su acción tóxica sobre los insectos, La primera se refiere al efecto ovicida donde elimina los huevecillos de los insectos debido a que los cubre completamente con una película que impide el intercambio gaseoso, la segunda es su amplio espectro de acción a nivel estomacal y de contacto (Davidson *et al.*, 1991).

Larraín (1982), menciona que los aceites vegetales alteran el equilibrio osmótico, es decir el huevecillo pierde agua que se secaría muriendo el embrión, en los adulto cubre con una capa oleosa que tapa los espiráculos de respiración matándolo por asfixia (Davidson, *et al.*, 1991).

Díaz (1985), evaluó aceites de algodón, cártamo, girasol, maíz, soya y olivo contra *Sitophilus zeamais* encontrando que los mejores resultados se obtienen con aceite de maíz a una concentración del 6 %. Otro antecedente lo proporciona Salas (1985), quien indica que la aplicación de 10 ml por kilogramo de cualquiera de los siguientes aceites (soya, ricino, coco, maní, sésamo y olivo) en maíz almacenado, provocan 100 % de mortalidad en *Sitophilus oryzae*, a las 3 horas de realizada la

aplicación. Actualmente, se está realizando investigación y desarrollo de formulaciones de aceites vegetales para el control de artrópodos plagas.

Variedades resistentes. Existen variedades nativas y criollas con resistencia al gorgojo, entre los cuales se cuentan accesiones de Sinaloa y Yucatán, y de regiones del Caribe. En el Estado de México se pueden conseguir variedades comerciales con niveles de tolerancia aceptables.

Extractos vegetales

La interacción de los insectos con las plantas ha dado lugar a una enorme variedad de metabolitos secundarios con actividad insecticida y estas propiedades han sido utilizadas por el hombre desde tiempos remotos para el control de plagas (Yang y Chang, 1988).

En los últimos años, las empresas de fitosanidad están prestando atención a productos de origen natural como fuente para el desarrollo de nuevos insecticidas (Addor, 1995), si bien la diversidad en estructuras químicas así como en el modo de acción hacen este campo muy complejo. Según Jermy (1990) unas 2000 especies vegetales poseen propiedades insecticidas, a lo que habría que añadir otras muchas que permanecen todavía por ser estudiadas.

Importancia de los extractos.

Existen una serie de métodos de control alternativos que se caracterizan por ser de bajo costo, alta efectividad y factibles de realizar por pequeños agricultores. La revalorización de las plantas como fuente de sustancias con propiedades insecticidas se viene difundiendo desde los últimos 35 años y en algunos países de América Latina como Brasil, México, Ecuador y Chile, se han desarrollado líneas de investigación que buscan en las plantas, compuestos químicos con menor impacto ambiental y potencial para el control de plagas agrícolas (Rodríguez, 2000).

México está incluido entre los países con mayor diversidad vegetal en el mundo; a pesar de ello, solo a una pequeña cantidad de estos se les da alguna utilidad; algunas personas empíricamente les han dado una utilidad medicinal, en algunos casos contra problemas infecciosos de origen fúngico. Al respecto se han hecho pruebas en 206 especies de plantas contra 26 especies de hongos

fitopatógenos incluyendo pruebas de germinación de esporas, desarrollo micelial y esporulación. Los resultados indican que existe una alta proporción de las plantas que actúan contra los hongos afectando su inhibición (Montes, 1990).

El uso de plantas con propiedades insecticidas es una técnica ancestral usada en África y América Central por cientos de años, pero con la aparición de los insecticidas sintéticos su empleo ha sido discontinuado aunque en los últimos años está teniendo nuevamente mayor importancia (Lagunés *et al.* 1985).

La mayoría de las especies de vegetales que se utilizan en la protección vegetal, muestran un efecto insectático más que insecticida (Silva *et al.*, 2002). Es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos al actuar como repelentes, disuasivos de la alimentación u ovipostura, confusores o disruptores y reguladores de crecimiento (Metcalf y Metcalf, 1992; Coats, 1999).

Tipos de extractos vegetales.

Purín fermentado: las partes de las plantas son encerradas en bolsas permeables y colocadas en un recipiente con agua. Se cubre el recipiente pero permitiendo que el aire circule y se revuelve todos los días hasta que se note un cambio de color, esto ocurre en una o dos semanas. Su olor es muy desagradable, así que puede agregársele unas gotas de extracto de flores de manzanilla o unas gotas de valeriana. Se aplica diluido, en especial si se hace sobre el follaje, la dilución recomendada es 1 en 10 partes.

Infusión: se colocan las plantas frescas o secas en agua hirviendo y se deja en reposo durante 24 horas.

Decocción: se dejan en remojo los materiales vegetales durante 24 horas, luego se les hierve 20 minutos, se cubre y se deja enfriar.

Maceración: se colocan los vegetales frescos o secos en agua durante no más de 3 días. Debe cuidarse que no fermente, y luego se utiliza el sobrenadante. Infusión: Se cubre el vegetal con agua caliente o hirviendo y se deja enfriar en un recipiente con tapa.

Extracto de flores: se utilizan flores frescas en lo posible recién abiertas, se cortan, se humectan y se “empastan “con ayuda de un mezclador. Se les extrae el

líquido y se les puede conservar en un frasco con tapa en rosca. Se debe diluir antes de usarse.

Recolección y secado del material: deben elegirse plantas vigorosas, para secarlas extenderlas sobre papeles y ubicarlos en un lugar tibio y aireado a menos de 30 grados. Los tratamientos de infusiones o decocciones no deben usarse, en general, durante días de lluvias, nublados o de gran insolación.

Extracto alcohólico: Se cubre el vegetal con alcohol y se deja macerar.

Antecedentes de plantas con principio activo

Polvos vegetales

El uso de polvos vegetales es una técnica recuperada de la agricultura de subsistencia de países principalmente de África y América Central (Lagunés y Rodríguez, 1989). Según Rodríguez (2000), las plantas que tradicionalmente se han utilizado en graneros rústicos para evitar el daño del grano por insectos son; cebolla (*Allium cepa*), ajo (*Allium sativum*), neem (*Azadirachta indica*), ají o chile (*Capsicum* spp), cedro (*Cedrela* spp), *Croton* spp, colorín (*Erythrina americana*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*), paraíso (*Melia azedarach*), menta (*Mentha spicata*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) hierba santa (*Piper auritum*), homeoquelite (*Piper sanctum*), sauco (*Sambucus mexicana*), jaboncillo (*Sapindus* spp) y ramatinaja (*Trichiliaha vanensis*).

Sin lugar a dudas este es un método de control que ha tenido una segunda época, pues se podría decir que ya está quedando atrás el tiempo en que hablar de insecticidas vegetales se limitaba al uso de piretro (*Tanacetum cineraiifolium*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) y rotenona (*Derris* spp) entre otros, ya que hoy en día en varios lugares del mundo hay grupos de investigación trabajando en la búsqueda de nuevas plantas con propiedades insecticidas. La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectático más que insecticida (Silva *et al.*, 2002). Es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos. Sin embargo, no se puede olvidar que algunas sustancias vegetales si provocan un efecto insecticida como sucede con las piretrinas, la nicotina o la rotenona (Izuru, 1970). Según Coats (1994), los compuestos naturales tienen un efecto protector que principalmente se debe a repelencia, disuasivo de la alimentación u oviposición y regulador de crecimiento. Además, Metcalf y Metcalf (1992) también señalan el efecto de confusión o disruptor.

Por lo tanto, debemos considerar a todos aquellos compuestos que sabemos que su efecto es insectático como preventivos más que como curativos (Rodríguez, 1993). Un ejemplo de lo último lo encontramos en el caso de los granos almacenados en donde una vez que el insecto ya penetró el grano, cualquier polvo vegetal de probada eficacia protectora no tendrá efecto (Lagunés 1994).

Aceites

Los aceites que se utilizan en el control de plagas de granos almacenados pueden ser de origen vegetal o mineral. Ninguna de estas alternativas tiene problemas para ser utilizada en un programa orgánico de producción. Los aceites de origen vegetal han sido utilizados desde muy antigua data para el control de diferentes insectos a nivel doméstico y de agricultura de subsistencia. Se han propuesto varias explicaciones para su acción tóxica sobre los insectos. La primera se refiere al efecto ovicida donde eliminaría los huevecillos de los insectos debido a que los cubre completamente con una película que impide el intercambio gaseoso (Davidson, *et al.*, 1991).

Otros autores, también para la eliminación de huevecillos, señalan que endurece la cubierta externa de modo que la larva una vez que completó el estadio es incapaz de romperlo y emerger. Además se plantea que altera el equilibrio osmótico, es decir el huevo perdería tanta agua que se secaría muriendo el embrión (Larrain, 1982). Por último alteraría la actividad enzimática del huevo produciéndose una coagulación del protoplasma. Como adulticida se plantea que cubre al adulto con una capa oleosa que tapa los espiráculos de respiración matándolo por asfixia (Davidson, *et al.*, 1991). La eficiencia de los aceites vegetales ha sido reportada exitosamente contra insectos de granos almacenados (Gastelúm y Rodríguez, 1996). El modo de acción que se les atribuye es principalmente ovicida (FAO, 1985) y larvicida en instares tempranos (Aguilera, 1991). Existen variados antecedentes sobre el uso de estos compuestos en granos almacenados. Por ejemplo FAO (1985), señala que en el Caribe se utiliza aceite de maní en una concentración de 2 a 5 % para el combate de *Callosobruchus maculatus*. A su vez Díaz (1985), evaluó aceites de algodón, cártamo, girasol, maíz, soya y olivo contra *Sitophilus zeamais* encontrando que los mejores resultados se obtienen con aceite de maíz a una concentración del 6 %. Otro antecedente lo proporciona Salas (1985), quien indica que la aplicación de 10 ml por kilogramo de cualquiera de los siguientes aceites: semilla de aceites de soya, ricino, coco, maní, sesamo y olivo en maíz almacenado, provocan 100 % de mortalidad en *Sitophilus oryzae*, a las 3 horas de realizada la aplicación.

Generalidades del orégano

Según Martínez (2005), el orégano es originario de Europa y de Asia occidental pero se cultiva en todo el mundo, crece en pastizales secos y al lado de los bosques, sobre todo en las colinas y montañas, hasta 2000 msnm, sin embargo, se le halla en mayor abundancia entre los 1400 y 1800 msnm.

Crece espontáneamente en todo el continente euroasiático, a condición de que el clima sea entre templado y subtropical, no demasiado seco. Es fácil encontrarlo en laderas pedregosas y terraplenes, zanjas húmedas y bordes de caminos, matorrales y bosques. Resiste bien las heladas, sobre todo el orégano rojo especie vulgare, se extiende por la parte septentrional del área de la especie, desde Inglaterra y Escandinavia y a través de Europa, hasta Asia y Taiwan. La especie virens, ocupa el extremo occidental del área de la especie, desde Canarias y Azores, Península Ibérica y nordeste de África, hasta Baleares. En España, la primera predomina en el norte y nordeste y la segunda en el noroeste, centro y suroeste.

El orégano es considerado un recurso forestal no maderable que se desarrolla en las zonas áridas y semiáridas de México, en un hábitat de vegetación caracterizado por matorral desértico chihuahuense, matorral micrófilo, matorral rosetófilo, izotal matorrales halófilo y gisófilo, matorral tamaulipeco, matorral submontano, bosque de montaña, bosque de encino, bosque de pino, bosque de oyamel. El orégano se asocia con comunidades donde destacan especies como: *Agave lechugilla*, *Larrea tridentata*, *Flouencia cernua*, *Acacia rigidula*, *Opuntia rastrera* *Patherum incanum*, *Leucphy frutences*, *Agave* sp. (Berlanga et al., 2005).

Composición química del orégano

En cuanto a la composición química del orégano se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano (Justesen, 2001). En *O. vulgare* se han encontrado ácidos coumérico, ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico (Milos et al., 2000). Los ácidos ferúlico, caféico, r-hidroxibenzóico y vainillínico están presentes en *O. onites* (Gerothanassis, 1998). Los aceites esenciales de especies de *Lippia* contienen limoneno, carvacrol, β -cariofileno, r-cimeno, canfor, linalol, a-pineno

y timol, los cuáles pueden variar de acuerdo al quimiotipo (Pascual *et al.*, 2001). En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanosido, ácido logánico, ácido 8-epi-logánico y carioptosido; y tres iridoides mayoritarios como el ácido carioptosídico y sus derivados 6'-O-p-coumaroil y 6'-O-cafeoil Rastrelli, (1998). También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina.

Metabolitos secundarios del orégano

Los aceites esenciales que son caracterizados por su alto contenido de monoterpenos (70-87.2%) se han encontrado importantes diferencias entre el contenido de carvacrol (44.8%) y 7.4% de timol (Salgueiro, 2003).

Silva (2003), menciona que el orégano es de interés, ya que en estudios se ha comprobado que su aceite esencial presenta actividad antimicrobiana, debido a sus dos principales componentes fenólicos: Timol y Carvacrol.

Timol

El timol (2-isopropil-5-metilfenol) es una sustancia cristalina incolora con un olor característico que está presente en la naturaleza en los aceites esenciales del tomillo o del orégano. El timol pertenece al grupo de los terpenos. Un isómero del timol es el carvacrol (<http://es.wikipedia.org/wiki/Timol>).

Antecedentes

Hay constancia de que los antiguos egipcios utilizaron ya el tomillo y con ello el timol en la conservación de sus momias debido a sus propiedades bactericidas. Como sustancia fue descubierto en 1719 por Caspar Neumann. La primera síntesis por parte de M. Lallemand data de 1842. En otros tiempos fue utilizado para el tratamiento de la anquilostomiasis (<http://es.wikipedia.org/wiki/Timol>).

Aplicaciones

El timol se caracteriza por su poder desinfectante y fungicida. Por su sabor agradable está presente en la formulación de diversos enjuagues bucales, pastas de

dientes etc. Una disolución de 5 % de timol en etanol se utiliza para la desinfección dermal y contra infecciones con hongos.

En veterinaria se aplica igualmente contra infecciones dermales y para estimular la digestión. En apicultura se usa para combatir un ácaro parasitario de la abeja llamado *Varroa* (<http://es.wikipedia.org/wiki/Timol>).

El timol se utiliza por vía oral en el tratamiento de la bronquitis, tosferina, dolor de garganta, diarrea, dispepsia, gastritis, desórdenes de la piel, desinfectante urinario y antihelmíntico. Tópicamente se utiliza en colutorios para prevenir la caries y para combatir la halitosis, para el tratamiento de la alopecia areata y también forma parte de muchos linimentos anti-inflamatorios. Por sus propiedades antibacterianas y anti fúngicas forma parte de gotas óticas. El orégano y el tomillo, plantas en las que se encuentra el timol en cantidades apreciables, son condimentos muy apreciados en la cocina mediterránea. El timol es también utilizado en cosmética y perfumería (<http://www.iqb.es/monografia/fichas/ficha115.htm>).

Carvacrol

Carvacrol, o cymophenol, $C_6H_3CH_3(OH)$ (C_3H_7), es un monoterpenoide fenol. Tiene un olor característico picante, caliente de orégano y un gusto de pizza. El carvacrol está presente en el aceite esencial de *Origanum vulgare*, el aceite de tomillo, el aceite obtenido de romper piedras y salvaje bergamota. El aceite esencial de tomillo subespecie contiene entre 5 % y 75 % de carvacrol, mientras que *Satureja* (salados) subespecies tienen un contenido de entre el 1 % y el 45 %. El *Origanum* especies *mejorana* y Dittany de Creta son ricos en carvacrol, el 50 % respectivamente 60-80 %.

Antecedentes

El carvacrol fenol es un fenol dominante, es un componente importante de aceite de orégano silvestre. Dependiendo de la calidad del orégano y la forma de destilación, las variaciones anuales en las condiciones del cultivo, el contenido de carvacrol que se puede encontrar va desde un 30 a un 87 % en los aceites tradicionalmente destilada. Se han empleado diversos productos a base de carvacrol en mezcla con otros compuestos para elevar el efecto del aceite de orégano.

Aplicaciones

Se dice que el carvacrol inhibe el crecimiento de varias cepas bacterianas, por ejemplo, *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*. Su baja toxicidad, junto con su agradable sabor y olor sugiere su uso como aditivo alimentario para prevenir la contaminación bacteriana. En *Pseudomonas aeruginosa* que ocasiona daños a la membrana celular de estas bacterias y, a diferencia de otros terpenos, inhibe la proliferación de este germen. La causa de las propiedades antimicrobianas se cree que es debido a la ruptura de la membrana de bacterias. Es un potente activador de los canales iónicos transitorios V3 potencial receptor (TRPV3) y A1 (TRPA1) en los humanos. La aplicación de carvacrol en la lengua humana, así como la activación de TRPV3, provoca una sensación de calidez. Además el carvacrol también activa rápidamente e insensibiliza el dolor receptor TRPA.

En las ratas, el carvacrol es rápidamente metabolizado y excretado. La ruta metabólica principal es la esterificación de los grupos fenólicos con ácido sulfúrico y ácido glucurónico. Una vía menor es la oxidación de los terminales de grupos metilo de los alcoholes primarios. Después de 24 horas sólo cantidades muy pequeñas de carvacrol o sus metabolitos se puede encontrar en la orina, lo que indica una excreción casi completa en un día (<http://en.wikipedia.org/wiki/Carvacrol>).

Usos del orégano

Por su parte Arcila *et al.*, (2005) menciona los diferentes usos del orégano, se usa como condimento de alimentos, también en la elaboración de cosméticos, fármacos y licores; motivos que lo ha convertido en un producto de exportación. Adicionalmente, la organización mundial de la salud estima que cerca del 80 % de la población en el mundo usa extractos vegetales o sus compuestos activos, por ejemplo los terpenoides, para sus cuidados primarios de salud.

Potencial Antimicrobiano

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia*

enterocolitica y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*. Tienen además capacidad antifúngica contra *Cándida albicans*, *C.tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus Níger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*; pero no contra *Pseudomonas aeruginosa*. Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial.

Los fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol el más activo. Otros compuestos, como el g-terpineno y r-cimeno no mostraron actividad contra las bacterias estudiadas. Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales se han establecido entre 0.28-1.27 mg/ml para bacterias, y de 0.65-1.27 mg/ml para hongos.

En el caso de *E. coli* O157:H7 existe una relación concentración/efecto a 625 ml/L con actividad bactericida después de 1 minuto de exposición al aceite, mientras que después de 5 minutos se requirieron 156 y 312 ml/L. Dicha acción antimicrobiana posiblemente se debe al efecto sobre los fosfolípidos de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos. Se ha informado que las células que crecen en concentraciones subletales de carvacrol, sintetizan dos fosfolípidos adicionales y omiten uno de los fosfolípidos originales.

Se ha demostrado que para los aceites de *L. multiflora* y *L. chevalieri*, los valores de CMI y de la concentración mínima bactericida (CMB) son más bajos para inhibir los microorganismos gram negativos (*Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Shigella disentería*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*) que para los gram positivos (*Staphylococcus camorum*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Bacillus cereus*). *L. multiflora* presenta alta actividad antimicrobiana debido a su alto contenido de timol y sus derivados. *L. chevalieri* contiene un alto porcentaje de p-cimeno, el cual ejerce un efecto antagónico con el carvacrol y el timol, lo que explica su baja actividad antimicrobiana.

El extracto etanólico de una línea clonal de orégano inhibió la acción de *Listeria monocytogenes* en caldo y otros productos de carne. También se ha encontrado que el aceite esencial de orégano es muy valioso en la inhibición de *E.*

coli O157:H7. Otros microorganismos como *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii* biogroup *sobria*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium*, *Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus*, se han logrado inhibir gracias a la presencia de extractos de orégano (2 % v/v). Estos estudios tienen importantes implicaciones para la industria alimentaria.

Efecto antiparasítico

El aceite esencial de *L. multiflora* es considerado un agente efectivo contra la infestación por piojos (*Pediculus humanus corporis* y *Pediculus humanus capitis*) y por el ácaro *Sarcoptes scabiei*; incluso en mayor grado que el bencil benzoato, la droga más comúnmente empleada contra estos parásitos. En esta especie de orégano, los componentes mayoritarios en su aceite son el cimeno (8 %), limoneno (15 %), linalol (34 %), geraniol (20 %) y timol (4 %). Entre los compuestos monoterpénicos volátiles presentes comúnmente en aceites esenciales, es conocida la capacidad del terpineol y la α - y β -pineno para matar piojos, aunque estos compuestos sólo se encuentran en bajas cantidades en dicho aceite esencial (3 %, 1 % y 4 % respectivamente). El aceite esencial de *L. multiflora* posee actividad antimalaria en diluciones tan altas como 1/8000 y 1/12000 lo que representa una alternativa interesante contra esta enfermedad debido a su baja toxicidad. Los extractos de *L. berlandieri* poseen actividad anti-giardia elevada, con una mortalidad de los trofozoitos del 90 %, mayor que la causada por timidazol (79 %), la droga típica usada para el tratamiento de la giardiasis.

Acción Estrogénica

Los flavonoides son un grupo de fotoquímicos que poseen actividad hormonal. La habilidad de proteger contra la osteoporosis y enfermedades cardiovasculares, acciones atribuidas a estrógenos endógenos como el 17β -estradiol, ha fundamentado la acción estrogénica de los flavonoides. Por otro lado, algunos de ellos presentan actividad antiestrogénica pues han demostrado prevenir la formación de tumores de mama.

Se ha encontrado que algunos alimentos, hierbas y especias contienen una gran cantidad de sustancias con actividad estrogénica. El orégano (*O. vulgare*) es una de las seis especias con más alta capacidad para ligar progesterona, junto con la verbena, la cúrcuma, el tomillo, el trébol rojo y la damiana. Además se cree que el orégano puede poseer una ligera actividad estrogénica *in vivo* cuando es consumido a través de los alimentos (69, 70). Sin embargo, se requiere más investigación para determinar con exactitud si los componentes del orégano poseen actividad estrogénica.

Capacidad antígenotóxica

La dieta es una fuente potencial de sustancias carcinogénicas a las que se exponen los humanos. Esto ha provocado un gran interés en buscar fuentes de nutrientes y de no-nutrientes que ayuden a prevenir o contrarrestar el efecto adverso que pudiesen ocasionar los aditivos sintéticos, tóxicos naturales, las sustancias generadas durante el procesamiento y los contaminantes accidentales. Se ha encontrado que algunos monoterpenos presentes en los aceites esenciales son inhibidores efectivos de la carcinogénesis. El aceite esencial de orégano tiene la capacidad de inducir un incremento en la actividad de la enzima detoxificante glutatión S-transferasa (GST) cuando se administra oralmente, lo cual sugiere un potencial anticarcinogénico. Los monoterpenos con diferentes grupos funcionales tales como hidrocarburos, aldehídos y cetonas son inhibidores *in vitro* de las monooxigenasas CYP2B1, por lo que pueden alterar la biotransformación de sustancias tóxicas. Algunos modelos animales para cáncer han demostrado que varios monoterpenos poseen propiedades anticarcinogénicas actuando a diferentes niveles moleculares y celulares. Por ejemplo el carvacrol (50 y 100mM) reduce en 25 y 35 %, respectivamente, el número de células de melanoma murino (B16F10), línea celular con un potencial metastásico elevado. Los extractos acuosos de *O. vulgare* y *O. majorama* presentaron importantes efectos antimutagénicos. La galangina y la quercetina, obtenidas de extractos metanólicos de hojas de orégano (*O. vulgare*), son flavonoides con actividad antimutagénica contra sustancias encontradas comúnmente en los alimentos. Por ejemplo, en nuestro laboratorio hemos encontrado un efecto protector del aceite esencial de orégano mexicano (*L.*

graveolens) en la cepa TA98 de *S. thypimurium*, contra 1-nitropireno, con una reducción de la mutagenicidad del 46 % a una dilución de 1.25×10^{-5} . La cantidad de galangina y quercetina requerida para inhibir el 50 % de la mutagenicidad de 20 ng del carcinógeno Trp-P-2 fue de 0.12 y de 0.81 mg, respectivamente, mientras que los extractos de hexano, cloruro de metilo y acetato de etilo de orégano presentaron la mayor actividad inhibitoria (68-72 %).

El tectol y la lipidoquinona presentes en *L. sidoides* mostraron inhibición *in vitro* contra células humanas de leucemia promielocítica (HL60) y leucemia linfoblástica aguda (CEM). En *L. dulcis*, (+)-animol inhibe células de melanoma murino (B16F10). También las células HeLa fueron muy sensibles a las flavonas como la eupafolina. Se sabe que los patrones de sustitución en los anillos A y B tienen diferente influencia en la actividad contra diferentes células tumorales. El aceite de *O. vulgare* (dilución hasta 1:10000) presentó altos niveles de citotoxicidad contra células HeLa y de cáncer ovárico humano. También *O. majorama* presenta actividad antitumoral y citotóxica contra líneas tumorales.

Por otro lado, varios estudios clínicos han demostrado que *Origanum* spp presenta alergenicidad, por lo que se debe evitar el consumo excesivo de *O. vulgare* y *O. majorama* durante el embarazo además de sus propiedades abortivas.

Usos y aplicaciones industriales

El orégano (*O. vulgare*) tiene usos medicinales, culinarios y cosméticos. Es utilizado en forma fresca y seca en la cocina mediterránea y de América Latina. Las especies de *Lippia* tiene usos tradicionales y farmacológicos tales como culinarios, analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos, sedantes, antidiarréico, tratamiento de infecciones cutáneas, antifúngico, tratamiento de desórdenes hepáticos, diurético, antihipertensivo, remedio de desórdenes menstruales, antimicrobiano, repelente, antimalaria, antiespasmódico, tratamiento de enfermedades respiratorias, de sífilis y gonorrea, contra la diabetes, abortivo y anestésico local.

Debido a la capacidad antioxidante de los extractos acuosos del orégano, se sugiere que éstos pueden ser empleados como sustitutos de los antioxidantes sintéticos. La peroxidación lipídica es uno de los principales problemas en la industria de los cárnicos, durante el procesamiento, la preparación y el

almacenamiento. En un intento por disminuir este problema se ha probado el efecto antioxidante de hojas, flores, extractos y aceite esencial de orégano con resultados positivos. Otra forma interesante de evitar la peroxidación de los ácidos grasos en la carne es utilizando los aceites esenciales del orégano como suplemento en la alimentación de los animales destinados para consumo humano.

Actividad insecticida

Existen variados antecedentes del uso de estos fenoles, se han hecho pruebas de efectividad para la protección de los cultivos contra plagas. Algunos aceites esenciales y sus componentes poseen un amplio espectro de actividad contra insectos, ácaros, hongos y nemátodos, tales como *Rhizopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, y *Sitophilus oryzae*, plagas que atacan granos almacenados y contra *Musca doméstica*.

El aceite esencial de *O. syriacum* contiene un alto nivel de carvacrol (61 %), el cual posee una concentración letal media (LC_{50}) = 37.6 mg/L, seguido del timol (21.8 %) con un LC_{50} = 36 mg/L contra larvas del mosquito *Culex pipiens molestus*. Entre otros compuestos activos se tiene a la mentona, el 1,8-cineol, el linalol y el terpineol, los aceites esenciales de *O. majorana* y *O. compactum* poseen una alta actividad insecticida contra huevos y adultos de *Mayetiola destructor*.

Los aceites esenciales de plantas representan una alternativa para la protección de los cultivos contra plagas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Toxicología del Departamento de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Obtención de los productos

Se utilizaron aceites de timol y carvacrol de orégano del Municipio de Salaises del Estado Chihuahua. Se utilizó semilla de maíz criolla producido en los terrenos experimentales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, cosechado en el ciclo de otoño- invierno de 2010, libre de impurezas, sin tratamiento químico alguno y con un contenido de humedad 12 ± 1 %.

Incremento de las colonias de *T. castaneum*

Las poblaciones de *Tribolium castaneum*, se incrementaron en una cámara bioclimática de la misma Universidad para posteriormente llevar a cabo los bioensayos en el laboratorio de toxicología del Departamento de Parasitología, se utilizó harina de trigo la cual se sometió a desinfección en un congelador a -6 °C por 5 días, esto para evitar la presencia de fuentes de inóculo de algunos organismos.

Para el incremento se utilizaron 500 adultos de 5 días de edad por cada kilogramo de harina de trigo, los insectos se tomaron de una colonia que ya se tenía en la institución. Los insectos se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura a 28° C, humedad relativa de 65 % y un fotoperiodo de 12:12 (L: O). Los adultos padres fueron retirados del medio de cría a los 15 días, pasándolos a nuevos recipientes con alimento fresco. La hembra pone de 300 a 500 huevecillos. El desarrollo, desde el huevo hasta el adulto, necesita 30 a 35 días en condiciones favorables.

Bioensayo

El método de bioensayo utilizado en el desarrollo del presente trabajo fue el de película residual (FAO, 1985), utilizando diferentes concentraciones para dicho trabajo.

Técnica de película residual.

Se prepararon las soluciones a diferentes concentraciones (2000, 4000, 6000, 8000 y 10000) y posteriormente en frascos de vidrio de 100 mL (frasco Gerber) se depositó 1 mL de cada solución, teniendo 5 tratamientos y dos testigos uno absoluto y el otro con tween 20, con 3 repeticiones cada uno. Se depositaron 10 insectos por cada frasco.

Los conteos de mortalidad se realizaron a las 24, 48 y 72 horas. Se consideró como individuo muerto a aquel que no presentara movilidad alguna al colocarlos en una placa metálica donde se les aplicaba calor, si los insectos presentaban alguna movilidad se tomaban como vivos. Con los datos obtenidos se determinaron los porcentajes de mortalidad de cada concentración, para posteriormente determinar la CL_{50} mediante el análisis probit.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los bioensayos se pasaron al análisis probit, donde se obtuvo las CL_{50} , CL_{95} , y límites fiduciales.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Efecto a través del Tiempo

Como se muestra en el cuadro 1, el efecto del metabolito secundario timol fue mas rápido debido ya que desde las 24 hr de los insectos expuestos al timol se observan altos porcentajes de mortalidad superiores al 50 % aun en la concentración mas baja de 2,000 ppm, mostrando un incremento en la mortalidad en la concentración mas alta de 10,000 ppm, se lograron obtener hasta el 100 % de mortalidad a las 72 hrs después de la aplicación, para la concentración mas alta de 10,000 ppm.

El timol tuvo un efecto rápido a través del tiempo, teniendo un comportamiento normal entre las concentraciones.

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad de *Tribolium castaneun* después de la aplicación del timol.

CONC	24 h	48 h	72 h
2,000	56.67	63.33	76.67
4,000	56.67	73.33	80
6,000	70	76.67	86.67
8,000	73.33	83.33	93.33
10,000	86.67	96.67	100
TESTIGO	0	0	0

Gráficamente la mortalidad de producto fue aumentando a través del tiempo, teniendo un comportamiento muy similar en su comportamiento, presentando los mas bajos porcentajes de mortalidad en la concentraciones mas bajas, aumentando conforme se incrementaban las concentraciones.

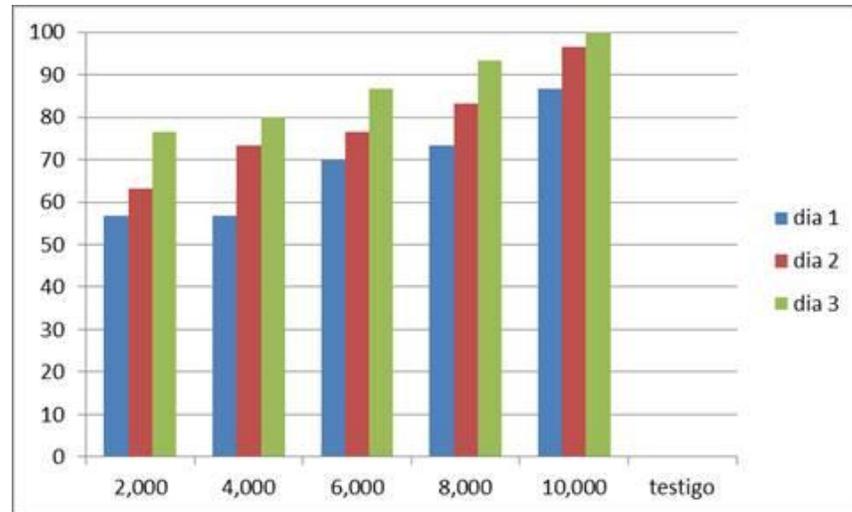


Figura 1. Porcentajes de mortalidad de *Tribolium castaneum* por efecto del metabolito secundario timol.

Carvacrol

El carvacrol tiene un efecto de mortalidad lento ya que a las 24 h después de la aplicación del producto mostró resultados de mortalidad del 40 % y el efecto se mostro lento a través del tiempo para todas las concentraciones empleadas, a las 48 hrs presento un 60 % de mortalidad, comportándose lento y aumentando poco conforme se incrementaba la concentración obteniendo un 76 % de mortalidad en la concentración mas alta de 10,000, a las 72 hrs solo se logro obtener un 83 % logrando el mas alto porcentaje a las 72 horas con un 86 % en la concentración mas alta de 10,000 ppm (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de mortalidad de *Tribolium castaneum* después de la aplicación del carvacrol.

CONC	24 h	48 h	72 h
2,000	46.6666667	60	63.3333333
4,000	53.3333333	66.6666667	76.6666667
6,000	63.3333333	73.3333333	80
8,000	66.6666667	76.6666667	83.3333333
10,000	73.3333333	76.6666667	86.6666667
TESTIGO	0	0	0

En la grafica 2, se observa el efecto de mortalidad de *Tribolium castaneum* lento a través del tiempo, las concentraciones mantuvieron un comportamiento normal.

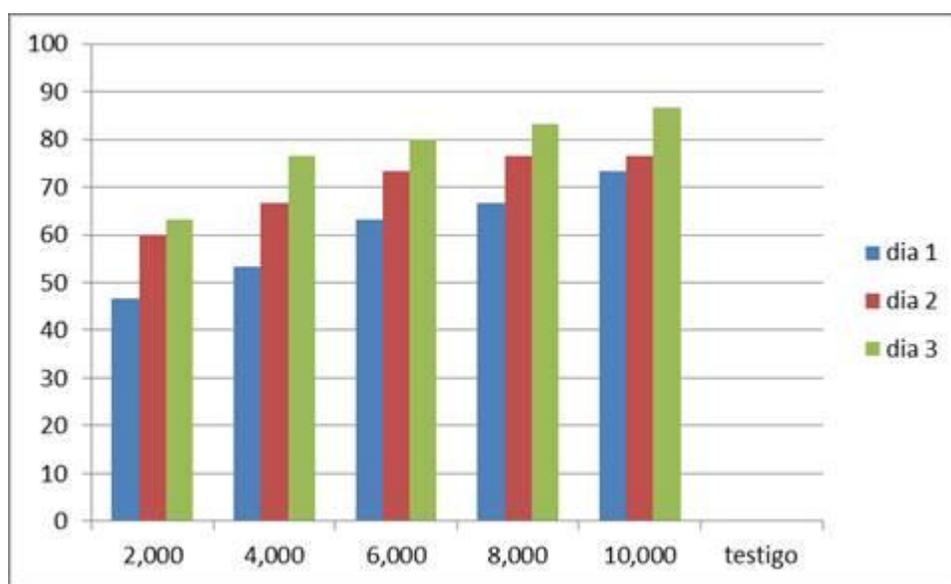


Figura 2. Porcentajes de mortalidad de *Tribolium castaneum* por efecto del metabolito secundario carvacrol.

Análisis probit

Los resultados de mortalidad de adultos de *T. castaneum* se muestran en análisis probit, donde se observa que para matar el 50 % de la población se necesita de 476 ppm de timol, para el caso del carvacrol se requiere 936 ppm a las 72 hrs, siendo en las cantidades mas bajas necesarias para matar el 50 %, aunque requiere de 72 horas. Las cantidades necesarias para matar el 50 % de la población, requieren de cantidades bajas de metabolitos secundarios de timol y carvacrol.

Para matar el 95 % de la población se requiere de 16,000 ppm de timol a las 72 hrs y de 13,000 ppm de carvacrol a las 24 hrs, siendo estas las cantidades mas bajas necesarias, a las 24 horas se requiere de 51,470 ppm de timol para tener un buen efecto y de 32,152 ppm de carvacrol a las 72, siendo estas cantidades altas de los metabolitos secundarios.

Cuadro 3. Analisis Probit (Concentración letal al 50 y 95 % de la población y limites fiduciales).

Producto	50 %	Limites Fiduciales		95%
		Mínimos	Máximos	
Timol 24 h	1,865.82	890.48	2,643.00	51,476.36
Timol 48 h	3,858,579	0.00	58,043.55	
Timol 72 h	476.05	16.56	1,111.08	16,508.30
Carvacrol 24 h	2,713.87	1,404.05	3,687.25	13,2881.68
Carvacrol 48 h	942.99	56.30	1,902.34	14,7472.61
Carvacrol 72 h	936.53	222.84	1,641.18	32,153.85

CONCLUSIONES

La purificación y empleo de los metabolitos secundarios de plantas, han mostrado buenos resultados, en el caso de timol y carvacrol muestran altos porcentajes de mortalidad a través del tiempo, lo cual demuestra que pueden ser empleados para el control de *Tribolium castaneum* en laboratorio.

Se recomienda hacer mas pruebas con la finalidad de observar la persistencia de los metabolitos secundarios bajo condiciones de almacén para el control de estos insectos, debido a que puede ser modificado el efecto por el medio ambiente.

LITERATURA CITADA

- Addor, R. W. 1995. Insecticides. En: C.R.A. Gofrey (ed): Agrochemicals from natural products. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, Estados Unidos, pp. 1-63.
- Aguilera, M. 1991. Validación semicomercial de polvos vegetales y minerales para el combate de *Sitophilus zeamais* Motsch, *Prostephanus truncatus* (HORN) y *Rhyzopertha dominica* (FABR). Tesis Magíster en Ciencias. Colegio de Postgraduados. México.138p.
- Aldryhim, Y. 1990. Efficacy of the amorphous silica dust, dryacide, against *Tribolium confusum* Duv and *Sitophilus granarius* (L.) Coleoptera: Tenebrionidae and Curculionidae). J. Stored Product Research 26(4):207-210
- Allen, S. 2001. Inert dust offer safe insect control option. Farming Ahead N° 109 (Enero):49-50
- Araya, J. 1993. Evaluación de polvos minerales y vegetales contra plagas de maíz y frijol almacenado en los estados de Zacatecas y Guerrero. Tesis Magíster en Ciencias. Colegio de Postgraduados. México.95 p.
- Arcila, L. C. C. G. Loarca, S. Lecona U. E. González., 2005. El orégano propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes PROPAC. Memorias 2ª REUNION NACIONAL SOBRE OREGANO. CIRENA, Saltaices, Chihuahua.
- Arcila, L. C. C., Loarca, P. G., Lecona, U. S. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *ALAN*. [online]. vol.54, no.1 [citado 30 Enero 2012], p.100-111. Disponible en la World Wide Web: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0004-0622.
- Arias, V. C. J. 1985. Insectos que dañan granos y productos almacenados. Oficina Regional de la FAO para América Latina y El Caribe. Chile serie: Tecnología Postcosecha 4. 142 pp.

- Arthur, F. 1996. Grain protectants: current status and prospects for the future. J. Stored Products Res., Vol. 32, No. 4. pp. 293-302.
- Banks, J. y P. Fields. 1995. Physical methods for insect control in stored-grain ecosystems. In: Jayas, D; N.White y W. Muir (Eds) Stored Grain Ecosystems. Marcel Dekker Inc. New York. USA. P 353-409
- Brower, J. L. Smith, P. Vail. y P. Flinn. 1996. Biological Control In: Subramanyam, B y D. Hagstrum (Eds). Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc. New York. USA p 223- 286.
- Clemente, S. 2000. Evaluación de la Acción Biológica de Extractos Vegetales sobre plagas de Importancia Agrícola. Tesis de Maestría de la Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires.
- Coats, J. R. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. Annu. Rev. Entomol. 39:489-515.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. New York. 1261 p.
- D'Antonio, L. 1997. Principais pragas de graos armazenados. In: Armazenamento de graos e sementes nas propriedades rurais. XXVI Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola. Campina Grande. Paraíba. Brasil p 189-291
- Davidson, N., J. Dibble, M. Flint, P. Marere, A. Guye. 1991. Managing insects and mites with Spray oils. IPM Education and Publications. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 3347. USA. 47p.
- Díaz, G. 1985. Actividades de aceites vegetales para proteger maíz almacenado contra el gorgojo *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Tesis Magíster en Ciencias. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo. Texcoco. México. 73p.
- FAO. 1985. Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: Manual de capacitación. FAO Italia. Colección FAO: Capacitación No. 10-128 pp.
- Fields, P. y W. Muir. 1996. Physical control. In: Subramanyam, B y D. Hagstrum (Eds). Integrated Management of insects in stored products. Marcel Dekker, Inc. New York. USA p 195-222.
- Flint, H. M. & Doane, C. C. 1996. Comprensión de los Semioquímicos con Énfasis en Feromonas Sexuales de los Insectos en Programas de manejo Integrado de

Plagas.

USDA-ARS-WCRL.

<http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/FlintSP.htm>

- García, R., L. E. Caltagirone y A. P. Gutiérrez. 1988. Comments on a redefinition of biological control. *BioScience* 38(10):692-694.
- García, V. Z. 1990. *Epidemiología Veterinaria y Salud Animal*. Ed. Limusa. S. A. de C. V. México, D. F. 213 p.
- Gerothanassis, I. P., Exarchou, V., Lagouri, V., Troganis, A., Tsimidou, M., Boskou, D. 1998. Methodology for identification of phenolic acids in complex phenolic mixtures by High-Resolution Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance. Application to methanolic extracts of two Oregano species. *J. Agric. Food Chem.*; 46, 4185-4192.
- Golob, P; C. Hanks. 1981. Protection of farm stored maize against infestation by *Prostephanus truncates* (HORN) and *Sitophilus* species in Tanzania. *J. Stored Prod. Res.* 26(4):187-198.
- González, E. M. 1984. Las plantas medicinales de Durango. Inventario básico. CIIDIR-IPN. Unidad Durango. 115 pp.
- González, O; A. Lagunes. 1986. Evaluación de métodos tecnificados y no tecnificados para el combate de *Spodoptera frugiperda* y *Sitophilus zeamais* en la Chontalpa, Tabasco. México. *Folia Entomológica Mexicana*. 70:65-74.
- González, U. 1995. El maíz y su conservación. Editorial Trillas. México DF. 399p
- Guevara, M. A y Sánchez, M. C. 2000. Efectos de extractos vegetales sobre bacterias fitopatógenas. *Manejo Integrado de Plagas*. 56: 38-44.
- Gutiérrez, D. L. J. 1992. Pérdida por manejo en maíz durante la cosecha y su relación con la dispersión de las plagas de poscosecha. Informe técnico, campo experimental, CIR. CENTRO, SARH-INIFAP. Pp 13-17.
- Hall, D. W. 1980. Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales. FAO Agricultural development Paper N°90. Roma. Italia p199-250.
- Herrera, A. A. J. M. 1961. Los aceites de petróleo como insecticidas y su empleo en los cultivos críticos. En: *Revista peruana de entomología*. 4 (1).
<http://en.wikipedia.org/wiki/Carvacrol>.
<http://es.wikipedia.org/wiki/Timol>.

<http://translate.google.com.mx>.

<http://www.iqb.es/monografia/fichas/ficha115.htm>.

Iannacone, J. A. y Murrugarra, Y. 2000. Fluctuación poblacional del predador *Metacanthus tenellus* Stal (Heteroptera: Berytidae) por los insecticidas botánicos rotenona y neem en el cultivo de tomate en el Perú. Rev. Col. Entomol. 26: 89-97.

Izuru, Y. 1970. Mode of action of pyrethroids, nicotinoids and rotenoids. Annu. Rev. Entomol. 15:257-272.

Jermy, T. 1990. Prospects of antifeedant approach to pest control. A critical review. *Journal of Chemical Ecology*, 16(11), 3151-3166.

Johnston, W. F. 1990. *Thuja occidentalis* L. northern white-cedar. In: Burns, R. M.; Honkala, B.H. Silvics of North America. Conifers. Agric. Handb. 654. Washington, DC: U.S.A 1: 580-589.

Justesen, U. y Knuthsen, P. 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. Food Chemistry. 73, 245-250.

Korunic, Z. 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. J. Stored Product Research 34(2/3):87-97

Lagunes, A. 1994. Uso de extractos y polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de postgraduados. USAID, CONACYT, BORUCONSA. Texcoco. México. 35p.

Lagunes, T. A. 1994. Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Memorias del Colegio de Postgraduados USAIDCONACYT- BORUCONSA. Montecillo. Texcoco. México. 32 pp.

Larrain, P. 1982. Control de bruco con aceites vegetales IPA La Platina (11):36-37.

Leos, M., J. R Salazar S. 1992. Introducción y diseminación del árbol insecticida Neem (*Azadirachta indica* A Juss En México. Memoria. VII semana del Parasitologo. UAAAN Pp 34-40.

Lindblad, C. y Druben, I. 1979. Almacenamiento del grano: manejo-secado-silos; Control de insectos y roedores. Editorial Concepto. México DF.331p.

- Mallis, A. 1990. Handbook of Pest Control. 7th edition. Ohio, USDA. 1152 pp.
- Martínez, M. 1994. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas; Fondo de Cultura Económica; 1a reimposición, México 1249 pp.
- Metcalf, C. L. y Flint W. P. 1976. Insectos destructivos e insectos útiles. Editorial, McGRAW-HILL.
- Metcalf, R. L y E. R. Metcalf. 1992. Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall. New York. USA. p 169.
- Milos, M., Mastelic, J., Jerkovic I. 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare L. ssp. hirtum*). Food Chem. 71, 79-83.
- Montes, B. R., Cruz C. V., y Madrigal, O. P. 1990. Control de la roya del frijol mediante extractos vegetales bajo condiciones de laboratorio en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. Memorias del XVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología; Culiacán, Sinaloa. 104 P.
- Montes, B. R. 2000. Evaluación de las plantas antifúngicas y su potencial a la fitosanidad. Memorias del VI Simposio Nacional Sobre Sustancias Vegetales y Minerales en el Combate de las Plagas. Acapulco, Guerrero, México. P. 111-115.
- Niembro, Rocas, A. 1986. Árboles y arbustos útiles de México. Limusa. México, D. F. 206 pp.
- Paez, A. 1987. El uso de polvos vegetales e inertes minerales como una alternativa para el combate del gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) en maíz almacenado. Tesis Magíster en Ciencias. Colegio de Postgraduados. México. 107 p.
- Pascual, M. E., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez, M. D. y Villar A., 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. J. Ethnopharmacol. 76, 201-214
- Pérez, M. J. 1998. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones del picudo del maíz *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleóptera: Curculionidae) de varias localidades de México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 142 pp.

- Pérez. P, Cesáreo R, Lara-R, Montes R y Ramírez, V. 2004 toxicidad de aceites esenciales y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: CULICIDAE) 20(1): 141-152
- Permul, D; G. Le Patourel. 1990. Laboratory evaluation of acid-activated kaolin to protect stored paddy against infestation by stored product insects. J. Stored Product Research 26(3):149-153
- Ramírez, G. M. 1966. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Ed. CECOSA, México. 300 p.
- Ramírez, M. M. 1990. Biología y Hábitos de insectos de granos almacenados Curso sobre insectos de granos y semillas de almacén. Aguascalientes, Ags. México. 1-51.
- Rastrelli L, Caceres A, Morales C, De Simone F, Aquino R. 1998. Iridoids from *Lippia graveolens*. Phytochem.49 (6), 1829-1832.
- Rodríguez, C. 2000. Plantas contra plagas. RAPAM. Texcoco. México. 133 p.
- Rodríguez, H. C. & D. Nieto A. 1997. Anonáceas con propiedades insecticidas. In: Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia). A. Reboucas, São Jose, I. Vilas Boas S., O. Magalhaes M. e T. N. Hojo R. (Eds). Bahia, Brasil. Pp.229- 239.
- Rodríguez, H. C. 1997. Insecticidas vegetales y agricultura orgánica. Evento de Aprobación en Certificación de Agricultura Orgánica. Colegio de Posgraduados. Montecillo. 162-179 pp.
- Rodríguez, H.C. 1993. Fitoinsecticidas en el combate de insectos In: "Bases prácticas de la agroecología en el desarrollo centroamericano". Modulo II: Manejo de plagas en el sistema de producción orgánica. San Martín Zapotitlan, Retalhuelu. Guatemala pág 112-125.
- Salas, J. 1985. Protección de semillas de maíz (*Zea mays*) contra el ataque de *Sitophilus oryzae* a través del uso de aceites vegetales. Agronomía Tropical 35(4-6):19-27
- Salgueiro L. R, Cavaleiro, C., Goncalves, M. J., Proenca de Cubha A. 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* Guatemala.

- Sánchez, M. F. 1988. Mejoramiento genético de la papaya (*Carica papaya* L.) prospectivos y logros. Monografía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo Coahuila. 116 p
- Saxena, R. C and Z. R. Khan. 1985. Effect of neem oil on survival of *Nilapova ratalugens* (Homoptera: Delphacide) and on Grassy stunt and ragged stunt virus transmission. J. Econ. Entomol. 48:647-691.
- Scholl, M. 1998. Integration of biological and non-biological methods for controlling arthropods infesting stored products. Postharvest News and Information 9(2):15-20
- Shoonhoven, A. V. 1978. Use of vegetable oils to protect stored beans from bruchid attack. Vol. 75, No. 2. J. Economic entomology. pp. 254-256.
- Silva, G. A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales; una vieja y nueva alternativa en el manejo de insectos. Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 66:4-12
- Silva, G. A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales; una vieja y nueva alternativa en el manejo de insectos. Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 66:4-12
- Silva, G., A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales; una vieja y nueva alternativa en el manejo de insectos. Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 66:4-12).
- Stampoulos, D. C. 1991. Effects of four essential oil vapours on the oviposition and fecundity of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleóptera: Bruchidae): Laboratory evaluation. Vol. 27, No. 4. J. Stored Prod. Rev. pp. 199-203.
- Stoll, G. 1989. Protección Natural de Cultivos. Editorial Científica Josef Margraf. Ludswigsburg. Alemania. 186 pp.
- Villaréal, Q. J A. 1999 Malezas de Buenavista 1ª edición Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo Coahuila p 124.
- White, N; J. Leesch. 1996. Chemical control In: Subramanyam, B y D. Hagstrum (Eds). Integrated Management of insects in stored products. Marcel Dekker, Inc. New York. USA p 287-330.
- Williams, R. N. and E. H. Floyd. 1970. Flight habits of the maize weevil *Sitophilus zeamais*. J. Ecob. Entomol. 63(5):1585-1588.

[www.linneo.net/plut/T/thuja_ occidentalis/thuja_occidentalis.htm](http://www.linneo.net/plut/T/thuja_occidentalis/thuja_occidentalis.htm) - 3k – Árbol de la vida p. 1

Yang, R. Z. y Chang, C. S., 1988: Plants used for pest control in China: a literature review. *Economic Botany*, 42(3), 376-406.