

**CONTROL DE *Sitophilus zeamais*, UTILIZANDO MEZCLAS DE TIMOL Y
CARVACROL EN DIFERENTES DOSIS EN SEMILLA DE MAÍZ
ALMACENADA Y SU EFECTO EN LA CALIDAD FISIOLÓGICA.**

POR

CESAR CRISTOBAL HERNANDEZ

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Grado de:**

**MAESTRO EN TECNOLOGIA
DE GRANOS Y SEMILLAS.**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO.**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Febrero de 2013.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

CONTROL DE *Sitophilus zeamais*, UTILIZANDO MEZCLAS DE TIMOL Y
CARVACROL EN DIFERENTES DOSIS EN SEMILLA DE MAÍZ
ALMACENADA Y SU EFECTO EN LA CALIDAD FISIOLÓGICA.

TESIS

POR:

CESAR CRISTOBAL HERNANDEZ

Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como
requisito parcial, para obtener el grado de:

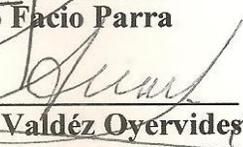
MAESTRO EN TECNOLOGIA DE GRANOS Y SEMILLAS

COMITÉ PARTICULAR:

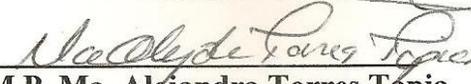
Asesor principal:


M.C. Federico Facio Parra

Asesor:

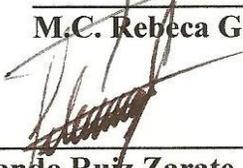

M.C. Antonio Valdéz Oyervides

Asesor:


M.P. Ma. Alejandra Torres Tapia

Asesor:


M.C. Rebeca González Villegas


Dr. Fernando Ruiz Zarate
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Febrero de 2013.

AGRADECIMIENTOS

Quiero en esta oportunidad agradecer en primer lugar a Dios por darme la vida, salud, por cuidarme, por guiarme por buen camino, por la sabiduría que me ha dado, agradezco también por permitir de tener a mis padres y la dicha de ser padre.

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por darme la oportunidad de seguir superándome. Agradezco también por todos sus servicios brindados.

En especial agradezco profundamente al **MC. FEDERICO FACIO PARRA**, por su enseñanza, por su humildad, amistad, por los consejos, y sobre todo por la asesoría e interés brindado para la realización de este trabajo de investigación.

Al **M.C. REBECA GONZALES VILLEGAS**, por todo el esfuerzo, apoyo y sugerencias brindadas, para la culminación de este trabajo de investigación.

Al **M.C. ANTONIO VALDES OYERVIDES**, por la revisión y sugerencias realizadas a este trabajo de investigación.

Para la **M.P. ALEJANDRA TORRES TAPIA**, por el tiempo dedicado para la revisión de este trabajo de investigación.

Expreso mi agradecimiento al **CENTRO DE INVESTIGACIÓN PARA LOS RECURSOS NATURALES (CIRENA)** en Salaices, Chihuahua, México. Por proporcionar los aceites de orégano para la realización de este trabajo de investigación.

Al **DR. RAMÓN SILVA VÁZQUEZ** por proporcionar los aceites del orégano para su realización de esta investigación.

No me puedo olvidar de mis compañeros de generación **LUIS Y LUZ MARÍA** quienes compartieron los grandes momentos conmigo y más por brindarme su apoyo y amistad.

Y por supuesto también a todas las personas que he conocido a lo largo de este tiempo así como a todos mis amigos y personas que me apoyaron e influyeron en la culminación de esta investigación.

DEDICATORIA

Especialmente a mis padres **BRAMBILO CRISTOBAL HERNANDEZ y LEOVA HERNANDES HERNANDEZ** que a pesar del tiempo y la distancia siempre están conmigo cuando más los necesito, gracias a ellos por todo el gran esfuerzo que me han brindado como en lo moral y económico para permitirme alcanzar mis metas.

A mi hijo **CESAR DANIEL CRISTÓBAL HERNÁNDEZ** quien es fundamental en mi vida por ser mi anhelo de salir adelante y tener este gran logro.

A **LUCELIA MORA OJENDIZ** por ser la compañera que Dios eligió para compartir una vida de felicidad. A pesar de todo por su paciencia, cariño, por apoyo incondicional y por el esfuerzo de estar conmigo en las malas y los buenos momentos.

A todos mis hermanos **DIGNORA, CARLOS, EDITH, FABIOLA, ANGÉLICA Y RUBÉN** que nunca me abandonaron siempre me apoyaron de forma incondicional y moral para cumplir mis metas.

A mis cuñados **FLORENTINO, ALBERTO, ZENÓN, MAXIMINO, MARICELA Y MARGARITA** por todo los ánimos y consejos que me brindaron durante mis estudios.

Por último a todos mis sobrinos, sobrinas, tíos, tías, primos y primas quienes en algún momento pensaron en mí ofreciéndome su gran apoyo.

COMPENDIO

CONTROL DE *Sitophilus zeamais*, UTILIZANDO MEZCLAS DE TIMOL Y CARVACROL EN DIFERENTES DOSIS EN SEMILLA DE MAIZ ALMACENADA Y SU EFECTO EN LA CALIDAD.

POR:

CESAR CRISTOBAL HERNANDEZ

MAESTRIA EN TECNOLOGIA
DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. FEBRERO DE 2013.

M.C. FEDERICO FACIO PARRA. - ASESOR-

PALABRAS CLAVES: almacenamiento, *Sitophilus zeamais*, timol y carvacrol de orégano, *Zea mays*.

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto de las mezclas de los aceites de timol y carvacrol en el control de *Sitophilus zeamais* en semillas de maíz producido en O-I del 2010. El estudio se estableció en tres etapas, una en el incremento de insectos *Sitophilus zeamais* hasta llegar a etapa adulto. En la segunda etapa, se planteo un bioensayo para determinar los resultados sobresalientes, evaluando la mortandad de los insectos *Sitophilus zeamais* aplicando ocho dosis diferentes de mezclas de aceites de timol y carvacrol de orégano incluyendo un testigo en tiempos de 24, 48 y 72 horas. La tercera

etapa se incrementó el número de tratamientos, estableciendo dieciséis en total incluyendo un testigo con agua, así mismo aumentando las concentraciones, determinando la mortalidad de los insectos y la calidad fisiológica de la semilla. Además se realizó un estudio sobre el grado de repelencia en el gorgojo de maíz *Sitophilus zeamais* utilizando los aceites de timol y carvacrol de orégano originales. Los parámetros a evaluar fueron la mortalidad de insectos, residuabilidad, repelencia y la calidad fisiológica de las semillas. Se realizaron dos muestreos, uno inicial a las 24 horas y otro a los 30 días. Para el caso de la mortalidad de insectos, la cantidad de maíz utilizada en cada unidad experimental fue de 70 g; colocando cada cantidad y aplicando el tratamiento correspondiente en frascos de 250 g. Una vez tratada la semilla se dejó reposar durante 24 horas y posteriormente se le agregaron diez insectos sin sexar. Evaluando la mortandad de insectos a las 24, 48 y 72 horas de ser expuestos en los tratamientos en cada muestreo, utilizando una lámpara y una criba para contabilizar el número de insectos muertos y vivos, consecutivamente se avaluó la calidad fisiológica de la semilla mediante las pruebas de capacidad de germinación y vigor. En cuanto la repelencia en *Sitophilus zeamais*, se evaluaron 5 dosis de los aceites timol y carvacrol de 200, 400, 600, 800, 1000 ppm respectivamente, empleando 3 repeticiones por cada dosis y aceite. Se aplicaron cada dosis en papel filtro Wathan No. 1 colocado dentro de una caja Petri y se dejó reposar durante 24 horas. En una caja de plástico de 21x 19x 7cm se colocaron en cada extremo dos cajas Petri una con la dosis de aceite y en otra sin aceite, a ambas se le agregaron 100 g de semillas de maíz criollo y en el centro de la caja de plástico se colocaron 15 insectos y se cerró la caja. Se evaluaron los conteos de repelencia a las 6, 12, 24 y 48 horas. Los datos de mortalidad de insectos y la calidad fisiológica de las semillas se analizaron bajo un diseño de parcelas divididas, donde se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9 (2000) y la comparación de medias de los tratamientos mediante una prueba de LSD a un nivel de significancia a 5 %. Y con la repelencia solo se cuantifico las medias de insectos repelidos. Como resultado del tratamiento que tiene un comportamiento diferente para cada variable evaluada, la repelencia mostro hasta un 73% a las 72 horas. La calidad fisiológica de la semilla mostró altos porcentajes de germinación, plántulas anormales y de semillas no germinadas, tanto para el tratamiento 15, los porcentajes de germinación fueron estándar muy alto, por lo que este factor no existe daño a la calidad fisiológica de la semilla, el efecto del aceite. Los

extractos no causa efectos negativos sobre la fisiología de la calidad de la semilla da un mejor demostrado en algunos tratamientos en desarrollo que en los controles, en el caso de la repelencia obtenido buenos efectos, puede ser una buena alternativa para el control de insectos.

ABSTRACT

CONTROL OF *Sitophilus zeamais*, USING MIXTURES OF THYMOL AND CARVACROL IN DIFFERENT DOSES OF CORN SEED STORED AND ITS EFFECT ON THE QUALITY

BY

CESAR HERNANDEZ CRISTOBAL

MS. SEED AND GRAIN TECHNOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO. FEBRUARY OF 2013.

M.S. FEDERICO FACIO PARRA. - ADVISOR-

Key words: storage, *Sitophilus zeamais*, thymol and carvacrol in oregano, *Zea mays*.

In the present research evaluated the effect of mixtures of oils thymol and carvacrol in the control of *Sitophilus zeamais* in corn seed produced in O-I 2010. The study was established in three stages, an increase in insect *Sitophilus zeamais* up to adult stage. In the second stage was used a bioassay to determine the outstanding results, evaluating the mortality of the insects *Sitophilus zeamais* applying eight different doses of mixtures of oils thymol and carvacrol oregano including a control at times of 24, 48 and 72 hours. The third stage increased the number of treatments, setting sixteen in all including a control with water, likewise increasing concentrations, determining the mortality of insects and seed physiological quality. Furthermore, a study on the degree of repellency in the weevil *Sitophilus zeamais* using corn oils thymol and carvacrol in oregano original. The parameters evaluated were the mortality of insect repellence and physiological quality of seeds. Samples were collected, an initial 24 hours and another 30 days. In the case of insect

mortality, the amount of corn used in each experimental unit was 70 g, placing each number and apply the appropriate treatment in bottles of 250 g. After processing the seed is allowed to stand for 24 hours and then were added ten unsexed insects. The parameters evaluated were the mortality of insect repellence and physiological quality of seeds. Samples were collected, an initial 24 hours and another 30 days. In the case of insect mortality, the amount of corn used in each experimental unit was 70 g, placing each number and apply the appropriate treatment in bottles of 250 g. After processing the seed is allowed to stand for 24 hours and then were added ten unsexed insects. Each dose was applied on filter paper No. 1 Whatman placed in a Petri dish and allowed to stand for 24 hours. In a plastic box 21x 19x 7cm were placed into two Petri dishes each end a dose of oil and other oil-free, both were added 100 g of native corn seed and in the center of the plastic 15 insects were placed and closed the box. Counts were evaluated repellency at 6, 12, 24 and 48 hours. Los datos de mortalidad de insectos y la calidad fisiológica de las semillas se analizaron bajo un diseño de parcelas divididas, donde se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9 (2000) y la comparación de medias de los tratamientos mediante una prueba de LSD a un nivel de significancia a 5%. Y con la repelencia solo se cuantifico las medias de insectos repelidos. As a result of the treatment have different behavior for each variable tested, showed repellency up to 73 % at 72 hours. The physiological seed quality showed high percentages of germination, abnormal seedlings and ungerminated seeds, in the two sampling for treatment 15, the germination percentage was very high standard, so this factor no injury to the physiological quality seed, the effect of the oil. The extracts did not cause adverse effects on the physiology of the quality of the seed gives better shown in some developing treatments than in the controls, in the case of repellency obtained good effects, may be a good alternative for the control of insects.

INDICE DE CONTENIDO

	Pág.
I.- INTRODUCCION.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	4
II.- REVISION DE LITERATURA.....	5
Insectos de los granos y semillas almacenados.....	6
Características del gorgojo de maíz <i>Sitophilus zeamais</i>	10
Generalidades del orégano.....	14
Propiedades culinarias del orégano.....	16
Calidad de la semilla.....	19
III.- MATERIALES Y METODOS.....	22
Localización del área experimental.....	22
Materiales.....	22
Metodología.....	23
Etapa 1.....	23
Etapa 2.....	24
Etapa 3.....	26
Parámetros evaluados.....	28
Calidad Fisiológica.....	29
Análisis estadístico.....	31
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
Evaluación de la mortalidad de insectos <i>Sitophilus zeamais</i>	33
Evaluación de la repelencia de insectos <i>sitophilus zeamais</i>	39
Evaluación de la calidad fisiológica de la semilla de maíz.....	42
V.- CONCLUSIÓN.....	61
RESUMEN.....	63
LITERATURA CITADA.....	66

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag.
3.1	Tratamientos del bioensayo (etapa 2) de las mezclas de aceites timol y carvacarol de orégano. UAAAN, 2010.....	25
3.2	Tratamientos aplicados en la etapa 3 del estudio de mezclas de aceites timol y carvacarol de orégano en semilla de maíz criolla. UAAAN, 2010.....	26
4.1	Cuadrados medios del análisis de varianza de la mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> en los dos muestreos en la evaluación de las 24, 48 y 72 horas.....	34
4.2	Comparación de medias de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> con la aplicación de diferentes tratamientos en los dos muestreos con la evaluación a las 24, 48 y 72 horas.....	37
4.3	Porcentajes de repelencia <i>Sitophilus zeamais</i> sobre semilla de maíz tratado con timol en laboratorio a través del tiempo.....	39
4.4	Porcentajes de repelencia <i>Sitophilus zeamais</i> sobre semilla de maíz tratado con carvacrol en laboratorio a través del tiempo.....	41
4.5	Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de capacidad de germinación estándar en el primer muestreo.....	43
4.6	Comparación de medias para la capacidad de germinación en el primer muestreo.....	44
4.7	Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de vigor en el primer muestreo.....	45
4.8	Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de vigor en el primer muestreo.....	46
4.9	Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de capacidad de germinación estándar en el segundo muestreo.....	52
4.10	Comparación de medias para las variables de germinación en el segundo muestreo.....	53
4.11	Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de vigor en el segundo muestreo.....	54
4.12	Comparación de medias para el vigor en el segundo muestreo.....	55

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pag.
4.1	Mortalidad del <i>Sitophilus zeamais</i> a las 24, 48 y 72 horas con los diferentes tratamientos en maíz almacenado de los dos muestreos.....	38
4.2	Repelencia de <i>Sitophilus zeamais</i> tratado sobre semillas de maíz con timol bajo condiciones de laboratorio.....	40
4.3	Repelencia de <i>Sitophilus zeamais</i> tratado sobre semillas de maíz con carvacrol bajo condiciones de laboratorio.....	42
4.4	Germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.....	47
4.5	Plántulas anormales en la germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.....	48
4.6	Semillas sin germinar en la germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.....	49
4.7	Longitud media de plúmula y longitud media de radícula de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos utilizada en el primer muestreo.....	50
4.8	Peso seco de semillas de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreos.....	51
4.9	Germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el segundo muestreo.....	56
4.10	Plántulas anormales de la semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el segundo muestreo.....	57
4.11	Semillas sin germinar en la germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el segundo muestreo.....	58
4.12	Longitud media de plúmula y longitud media de radícula de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo utilizado en el segundo muestreo.....	59
4.13	Peso seco de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos del segundo muestreo.....	60

I. INTRODUCCIÓN

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 alimentos en forma constante y en buen estado de consumo.

Uno de los problemas más grandes para la conservación de granos y semillas lamentablemente, se ve entorpecido por los insectos y plagas que pudieran existir en ellos en el almacén, causando cuantiosas pérdidas, tanto en lo económico como en su disponibilidad para la alimentación de animales y seres humanos (Larraín, 1994); también estas pérdidas se reflejan en el peso, valor nutricional, calidad fisiológica, calidad comercial e industrial, aún incluso en atacar y dañar el material de empaque y estructuras de las bodegas (Appert, 1987). 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 (Serna, 1996).

Los métodos de control de plagas en granos y semillas almacenadas son de muy variada naturaleza; existen desde técnicas altamente sencillas como el uso de temperaturas extremas, de fresco a frío, métodos físicos como polvos inertes, envases herméticos, atmósferas controladas hasta el uso de insecticidas sintéticos. Lamentablemente muchas de estas técnicas no están al alcance de los pequeños agricultores, ya sea por el alto costo o por el riesgo que pueda implicar el uso inadecuado de ellos; en vista de ello, los agricultores muchas veces recurren a elementos disponibles en su medio.

El método químico es el más utilizado para proteger los granos almacenados del ataque de los insectos (White y Leesch, 1996). Sin embargo, los problemas causados por el

mal uso de los insecticidas sintéticos han obligado a buscar nuevas alternativas de control, como es el uso de sustancias derivadas del metabolismo secundario de las plantas (Mareggiani, 2001).

Una alternativa de esta problemática es el empleo de productos de origen vegetal, la revalorización de las plantas, como fuente de sustancias con propiedades insecticidas, se viene difundiendo desde los últimos 35 años. En algunos países de América Latina se han desarrollado interesantes líneas de investigación, que buscan en las plantas compuestos químicos con menor impacto ambiental y con potencial para el control de plagas agrícolas.

Una de las especies que se ha venido estudiando a lo largo del tiempo, es el orégano que gracias a sus propiedades y principios activos que se encuentran en la esencia, puede ser un buen candidato para este tipo de alternativas; ese líquido amarillo que se puede observar con buena vista, en el interior de las flores y que también se localiza en las hojas, se compone principalmente de aceites esenciales, resina y algún tanino; este último también abunda en los tallos, el cual le da el sabor amargo. Sin embargo el aceite esencial de la planta muestra una composición variable según las subespecies y según la zona donde se cultive.

La planta del orégano contiene compuestos químicos como ácidos fenólicos, cafeíco, clorogénico, rosmarínico; flavonoides: derivados del apigenol, del luteolol, del diosmetol; ácido ursólico; sustancias tánicas y elementos minerales, así como el aceite esencial se menciona que está constituido fundamentalmente por carvacrol y timol, fenoles que pueden alcanzar hasta el 90% del total; además de contener pineno, sesquiterpenos, cimeno, entre otros.

En la actualidad existe una gran demanda de los compuestos minerales y esenciales del orégano debido a sus conocidas propiedades antioxidantes, asociadas al timol y carvacrol, fungicidas y bactericidas además de citotóxicas. Se ha demostrado su gran nivel de citotoxicidad para animales incluyendo dos tipos de células derivadas de cánceres humanos,

lo cual aumenta la importancia de sus cualidades en la investigación sobre enfermedades humanas.

Líneas de investigación han demostrado que los aceites esenciales del orégano, extraídos mediante hidrodestilación, tienen un efecto de toxicidad por inhalación en *Acanthoscelides obtectus* Say, *Bruchidae*, *Coleopterae*, una plaga de *Phaseolus vulgaris* L. Estos ensayos abren una puerta a la posible utilización de estos aceites esenciales en formulaciones para el control de otras plaga como *Sitophilus zeamais* precisamente en *Zea mais* L.

Por lo anterior se ha determinado trabajar con mezclas de timol y carvacrol extraídos del orégano, aplicados en semilla de maíz almacenada con la finalidad de obtener mayor información sobre su actividad como insecticida y evaluar su efecto en la calidad fisiológica de la semilla tratada con las mezclas, planteando los siguientes objetivos:

Objetivo general

Encontrar la dosis óptima de la mezcla de timol y carvacrol, extraídos del orégano y aplicadas para el control de mortalidad de *Sitophilus zeamais*, su residuabilidad y repelencia, sin que afecte la calidad fisiológica de semilla de maíz almacenada.

Objetivos específicos

Evaluar las diferentes mezclas de timol y carvacrol en la residuabilidad y la mortalidad del *Sitophilus zeamais*.

Determinar el efecto de repelencia de las mezclas de timol y carvacrol en el *Sitophilus zeamais*.

Identificar el efecto de las mezclas de timol y carvacrol en la calidad fisiológica de la semilla.

Hipótesis

Al menos una de las mezclas de timol y carvacrol tendrá efecto en la mortalidad de *Sitophilus zeamais*, a través del tiempo del almacenamiento.

Se considera que una de los aceites del orégano de timol y carvacrol tendrá efecto en la repelencia de *Sitophilus zeamais*.

Se espera que al menos ninguna de las mezclas de timol y carvacrol tenga efecto en la calidad de la semilla de maíz.

II. REVISION DE LITERATURA

El consumo de cereales data desde tiempos antiguos. En las civilizaciones americanas como los mayas y los aztecas, el maíz era el cereal que se cultivaba y que hoy en día continúa siendo el alimento básico de la dieta de la mayoría de las poblaciones, mientras que en Asia, el cereal predominante es el arroz, en África el sorgo y el mijo. Los cereales son las semillas de las gramíneas, en las que se incluyen el: maíz, trigo, arroz, cebada, avena, mijo y centeno. Por esto, su almacenamiento por largos períodos de tiempo es esencial para disponer de alimentos en forma constante y en buen estado de consumo (INCAP, 1991).

La pérdida de granos en almacenaje es el principal problema en postcosecha que enfrenta el agricultor. Uno de los factores limitantes para la conservación de granos y semillas lamentablemente se ve entorpecido por los insectos plagas de los granos y semillas 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.

Las pérdidas por ataques de insectos en granos y semillas almacenados son cuantiosas a nivel mundial (10%), esto se agrava en países tropicales, en donde la temperatura favorece el desarrollo de los insectos. En México no existen cifras precisas que indiquen el volumen de pérdida de granos y semillas; sin embargo, se estima que anualmente se pierde entre el 5% y el 25% de la producción total de maíz, trigo y frijol, principales granos básicos del país (García *et al.*, 2009).

Los insectos se convierten en plagas cuando el tamaño de la población o los daños que causan, o ambos, exceden los valores normales. A estos límites se les conoce como umbral de daño económico, el cual constituye una amenaza para las cosechas y un riesgo para la inversión del agricultor. Las plagas son capaces de infestar el maíz en cualquiera de las etapas de desarrollo y durante el almacenamiento; atacan cualquier parte de la planta, incluso el grano, y se les asocia a enfermedades y otros riesgos sanitarios, como la presencia de hongos y toxinas. El maíz almacenado es una fuente ideal de alimento para los insectos, que están adaptados a situaciones de confinamiento (García *et al.*, 2007).

Los métodos de control de plagas en granos y semillas almacenados son de muy variada naturaleza. Existen desde técnicas altamente sencillas, como el uso de temperaturas extremas, de fresco a frío y otros métodos físicos como polvos inertes, envases herméticos, atmósfera controlada y hasta el uso de insecticidas sintéticos. Sin embargo el uso de las plantas resulta ser más sencillo para el control de plagas de los granos almacenados, puede ser utilizado en extractos o una mezcla física de polvos secos y húmedos. Se ha evaluado una gran cantidad de estos productos, polvos de origen vegetal, para el control de estos insectos en países como Brasil, México y Chile, aunque sus propiedades protectoras son solamente preventivas, ya que una vez que el insecto penetra el grano, el polvo insecticida no tendrá efecto (Silva *et al.*, 2002).

Insectos de los granos y semillas almacenados

Para garantizar la disponibilidad de granos y semillas en la cantidad, así como con la oportunidad y calidad requeridas, es necesario recurrir a su almacenamiento y conservación. El almacenamiento se refiere a concentrar la producción en lugares estratégicamente seleccionados; en tanto que la conservación implica proporcionar a los productos almacenados las condiciones necesarias para que no sufran daños por la acción

de plagas, enfermedades o del medio ambiente, evitando así mermas en su peso, reducciones en su calidad o en casos extremos la pérdida total (Hernández, 1999).

Existen varias razones por las cuales se deben guardar los granos y semillas. Desde las más simples como son las de preservarlas por un corto periodo, desde su cosecha hasta la próxima siembra, otras de orden técnico, como es el caso de materiales de alto valor genético o el de las semillas que presentan latencia y se desee que ésta no se rompa naturalmente en almacenamiento. También pueden ser de orden económico como cuando existe saturación en el mercado, o puede ser por alguna razón legal o sanitaria que impida su comercialización inmediata. Independiente de las razones de preservarlas el objetivo primordial del almacenamiento es mantener las semillas viables, en buena condición física y fisiológica, para lograr una satisfactoria germinación y posterior emergencia (Cerovich y Miranda 2004).

Uno de los principales problemas a nivel mundial, en cuanto el almacenamiento de granos y semillas, es que los medios disponibles son simples depósitos que no impiden el ataque de las plagas, ni crea un medio inconveniente para éstas. Las consecuencia de un proceso inadecuado de la conservación de granos y semillas, provocan daños, que son causados por roedores, insectos, hongos y bacterias, que deterioran y destruyen los alimentos. Este problema es importante desde el punto de vista alimentario, ya que en la agricultura de subsistencia el maíz almacenado es una fuente importante de carbohidratos y proteínas para la gente de escasos recursos en el mundo (Larraín, 1994).

Las pérdidas de postcosecha en México han sido parcialmente cuantificadas, especialmente en regiones tropicales que comprenden más del 35% del territorio nacional y donde se ha reportado que a menudo son muy severas. En un estudio realizado en México entre 1999 y 2000, en 11 localidades se cuantificaron las pérdidas durante el período de postcosecha (Bergvinson *et al.*, 2001; Lilja y Bellon, 2006). En las regiones con clima seco el daño reportado no rebasó el 10% con pérdidas inferiores al 1%; en tanto que para regiones subtropicales se encontró entre 25 y 40% de daño con pérdidas entre 10 y 20% y

en las regiones tropicales el grado de daño superó 80% con pérdidas entre 20 y 40%. Al analizar los ambientes subtropicales se encontró una enorme influencia de la temperatura y la humedad relativa en los niveles de daño y pérdida (Bergvinson *et al.*, 2001).

Por su parte Tigar *et al.* (1994), aportan datos de grandes pérdidas de granos y semillas, en la zona del Bajío, 63% de maíz almacenado durante varios meses se encontró infestado con plagas. Así mismo Torres, (1995). Realizó estudios en regiones de clima húmedo reporto que la presencia de plagas superó 80%, por lo que fue la primera causa de pérdidas en grano almacenado, mientras que en el Altiplano se encontró de 20 a 30% de infestación.

El buen almacenamiento de granos y semillas depende de muchos factores, tales como humedad, temperatura, ataque de insectos, hongos, roedores, manejo del grano y manejos del almacén. Estos factores ocasionan cambios en el grano y todos están íntimamente ligados entre sí (Programa Regional de Postcosecha, 1998).

Por ende el grano debe estar seco y frío para disminuir su actividad metabólica. Generalmente los mayores problemas, en este tipo de almacenamiento, se presentan con los granos y semillas húmedas. La humedad y la temperatura son las dos variables que más afectan la actividad de los granos y semillas y los demás organismos que viven en el granel principalmente los insectos y hongos. A mayor temperatura y humedad, mayor actividad. Como ejemplo, podemos decir si se recibe maíz con 20% de humedad y a 25°C de temperatura ambiente, se podría almacenar por 12 días, pero si la temperatura sube a 30°C solo se lo podría almacenar por 7 días en esas condiciones (Casini, 2007).

Para minimizar estas pérdidas, normalmente se utilizan insecticidas químicos para proteger los granos almacenados del ataque de los insectos, también se utiliza las plantas con propiedades insecticidas que se mezclan con fungicidas con el fin de proteger las semillas durante su almacenamiento; sin embargo, los productos químicos y las dosis aplicadas pueden causar toxicidad tanto a la semilla como a las plántulas, con frecuencia

conducen a problemas de resistencia de la plaga, contaminación del ambiente y residuos en alimentos, lo cual plantea la necesidad de estudiar nuevos productos que presenten igual o mejores resultados en el control de las plagas y que además no dañen la calidad de las semillas durante su almacenamiento. Por ende, se requiere buscar alternativas, que sean económicas, biodegradables y disponibles en armonía con el desarrollo sostenible (White y Leesch, 1996).

De igual manera Iannacone y Reyes, (2001); Iannacone y Lamas, (2003a), Reafirman que los insecticidas químicos para el control de las plagas, generan efectos negativos en los seres humanos por su alta capacidad de bioacumulación y su poder residual prolongado. Y también proponen la misma alternativa al problema usando productos naturales derivados de plantas, generalmente biodegradables y no producen un desequilibrio en el ecosistema.

Existen aproximadamente 250 especies de insectos que atacan los granos y semillas, alrededor de 20 son los de mayor importancia. Con base al daño que ocasionan los insectos se han agrupado en especies primarias, las cuales son capaces de dañar granos enteros. Las especies secundarias, son aquellas que atacan a granos partidos o que previamente han sido dañados por las primarias y se multiplican con facilidad en los productos obtenidos de la molienda de granos, las especies terciarias se multiplican en granos y productos que presentan características de deterioro ya sea causada por otros insectos o por microorganismos (García *et al.*, 2009).

El estudio de los insectos que atacan granos y semillas (gorgojos, palomillas de los graneros, palomillas de las harinas, coleópteros barrenadores y taladros), así como de las plagas exóticas (gorgojo *khapra*). Es importante conocer la biología, ecología y tipo de daños de las principales plagas en granos y semillas almacenados para poder controlarlos.

Entre todos los agentes perjudiciales, los insectos son los causantes de las mayores pérdidas (White, 1995), siendo las especies más importantes *Sitophilus oryzae* L., *S. granarius* L. y *S. zeamais* Motschulsky que pueden ser altamente destructivo y por

encontrarse ampliamente distribuido por el mundo (Rees, 1996). Por su parte, Larraín, (1994) señala que cerca del 10% de los granos de cereales pueden ser infestados por *S. zeamais*, en el momento de la cosecha, y si la infestación continúa en el almacenaje, alrededor del 30 al 50% de los granos puede estar dañado al cabo de seis meses.

Características del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*)

Los insectos son animales artrópodos, cuyo cuerpo está cubierto de un tegumento denominado exoesqueleto y está dividido en tres partes distintas: cabeza, tórax y abdomen. En la cabeza están los órganos de los sentidos y el aparato bucal, mientras que el tórax contiene los tres pares de patas y las alas; en el abdomen están los órganos digestivos y respiratorios. Los insectos respiran a través de tráqueas que son pequeños tubos membranosos y ramificados que se comunican con el exterior por medio de orificios llamados estigmas (FAO, 1993).

El gorgojo adulto mide entre 3.3 y 5 mm de largo; es de color pardo negruzco o rojizo; su cabeza se proyecta en forma de pico y su tórax es alargado y cónico, con manchas ovales en el dorso. Tanto las larvas como los adultos se alimentan del grano. La hembra adulta hace un hueco en el grano, deposita un solo huevo por grano y lo cubre con un fluido gelatinoso, las larvas se alimentan del endospermo del grano, hasta que se transforman en pupa cuando se convierten en adultos, perforan el grano y salen al medio ambiente. Durante su ciclo de vida una hembra puede depositar de 300 a 550 huevos, los cuales incuban en tres días y originan una larva blanca y suave de tres milímetros (Tinoco *et al.*, 2002).

Por su parte Pereira, (1993), describe los insectos que atacan a los granos y semillas almacenados tienen características propias que los distinguen de los que se encuentran en la mayor parte de los cultivos. Son pequeños, prefieren los sitios oscuros, son capaces de esconderse en grietas muy reducidas y se caracterizan por su elevada capacidad de

reproducción, lo que permite que pocos insectos formen una población considerable en muy poco tiempo. Por esta razón, una pequeña infestación inicial pueda dañar dentro de pocos meses una gran cantidad de granos almacenados.

En el Estado de México se localiza en las zonas sur y noroeste. Estos insectos infestan las mazorcas en el campo durante el secado del grano y antes de la cosecha, o cuando el grano es almacenado. Los mayores daños al grano los ocasionan las larvas y los adultos (García *et al.*, 2007).

Métodos de control de *Sitophilus zeamais*

El uso del control biológico en granos y semillas almacenadas presenta muchas ventajas, como la liberación de los enemigos naturales en ambientes confinados que los protege de las condiciones adversas del clima, además 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 la desventaja de los enemigos naturales es que 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 (Brower *et al.*, 1996).

El enemigo natural del gorgojo es una avispa perteneciente a la familia de los Pteromalidae, la Hymenoptera, se le identifica fácilmente porque es pequeña y tiene una tonalidad verde metálico. Comúnmente se encuentra en el maíz almacenado, junto con la plaga. La avispa actúa de la siguiente manera: primero localiza la galería que formó la larva del gorgojo; después, introduce su ovipositor en el pericarpio y coloca un huevecillo

muy cerca de la larva del gorgojo; eclosiona y se ancla a su hospedante. La larva de la avispa se desarrolla a expensas de su hospedero. Por último, la avispa emerge después de 14 días. Y la larva del gorgojo muere (García *et al.*, 2007).

Otra forma de control para el gorgojo del maíz es la aplicación de mezclas de agentes protectores estos son como la cal y tierra diatomea o tizate, entre capa y capa del grano, o vaciar los agentes y mezclarlos con el grano. En pruebas de laboratorio y campo se ha demostrado que evitan el libre movimiento de los insectos, ya que las sustancias se adhieren a su cutícula, causándoles serios daños y en algunos casos la muerte. Se recomienda además el uso de las siguientes plantas como agentes repelentes: epazote común, harina de chícharo, hojas de eucalipto, hojas del árbol Neem u hoja de maravilla que pueden reducir hasta en un 25% la presencia del gorgojo (García *et al.*, 2007).

Muchos agricultores utilizan para el control del *Sitophilus zeamais* los productos químicos, comúnmente los más usados son el fosforo de aluminio, bromuro de metilo y cloropicrina, los cuales son de uso restringido debido principalmente a sus características altamente tóxicas, deben ser manejados con medidas de seguridad adecuadas (Reigart *et al.*, 1999). Por el cual García *et al.*, (2007), también recomienda fumigar con agentes como fosforo de aluminio (fosfina) en casos de infestaciones importantes.

En las últimas décadas se ha destacado la importancia de identificar y estudiar los factores que confieren la resistencia. Varios reportes indican la existencia de variedades de maíz resistente a plagas de almacén (Arnason *et al.*, 1994; Arnason *et al.*, 1997; Bergvinson, 2003 y García *et al.*, 2004), entre ellas destacan las accesiones Sinaloa 35 y Yucatán 7 (Arnason *et al.*, 1994), así como las poblaciones 84 y 80, a partir de las cuales se han desarrollado estudios de los mecanismos de resistencia en maíz (García *et al.*, 2004). Al respecto, Arenas *et al.*,(1994) señalan que la tolerancia al ataque de insectos ha sido atribuida a factores como dureza, tamaño y textura del grano, contenido de amilosa, contenido de fenoles, presencia de sustancias anti alimenticias y ácidos felúrico y cumárico, así como al espesor del pericarpio y al contenido de humedad.

En la actualidad, las medidas de control se basan en la aplicación de productos químicos sintéticos, debido a su eficacia y bajo costo (Sahaf *et al.*, 2008). En nuestro país y en el resto del mundo, los más utilizados son los insecticidas químicos convencionales como los organofosforados (diclorvos, malatión, metil-clorpirifos, metilpirimifos), piretroides (deltametrina) y piretrinas naturales obtenidas a partir de extractos de *Tanacetum* sp. (Asteraceae) (CASAFE, 2005) y los fumigantes que incluyen el bromuro de metilo, la fosfina y el fluoruro de sulfidrilo (Navarro, 2006).

Existen una serie de métodos de control alternativos que se caracterizan, por su alta efectividad y factibles de realizar por pequeños agricultores. La revalorización de las plantas como fuente de sustancias con propiedades insecticidas que 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).

Hoy en día, los productos de origen vegetal utilizados para el control de insectos son el piretro, la rotenona, el neem y los aceites esenciales. Los aceites esenciales son reconocidos como una importante fuente de pesticidas naturales y se postulan hoy como posibles alternativas de reemplazo a los insecticidas sintéticos quienes ocasionan severos daños ecológicos y a la salud del hombre. En este contexto, los extractos y aceites esenciales se presentan hoy en todo el mundo, como una excelente alternativa ofreciendo, biodisponibilidad, biodegradabilidad y selectividad. 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 del orégano (Salgueiro, 2003).

Silva (2003), menciona que el orégano es de gran 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.

Generalidades del orégano

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 (Martínez, 2005).

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 ssp. *Vulgare*. En México se desarrollan dos especies de *Lippia* con características semejantes a las del orégano europeo (*Origanum* spp.), consideradas sustitutos de éste: *L. palmeri* Wats en Baja California, Sonora y parte de Sinaloa, y *L. graveolens* de mayor distribución en el resto de la República Mexicana. Por la calidad del aceite esencial contenido en la hoja, su explotación comercial es superior a las 4000 t anuales y más de 90 % de la producción de la hoja se exporta a Estados Unidos de América y Japón (Huerta, 1997).

La mayor producción de orégano para fines comerciales es la de género *lippia* cuyas especies más abundantes en México son: *lippia berlandierishauer* y *lippia graveolens* H.B.K. esta producción se concentra en los estados de Durango, Guanajuato, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas (CONAFOR, 2005).

En la zona norte de Jalisco, cada año se recolectan entre 400 y 700 toneladas de orégano y existe el interés de darle valor agregado mediante la producción de aceites esenciales debido a su alta cotización en el mercado internacional (Martínez, 2005).

Por su parte Berlanga, *et al.*, (2005), menciona que 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*, *Flourenciacernua*, *Acacia rigidula*, *Opuntia ratrera*, *Patherumincanum*, *Leucphy frutences* y *Agave* sp.

Composición química del orégano

En cuanto a su composición química del orégano. Se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenil propano (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. onitesc*(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.*,2004). En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetil secologanosido, 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. También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina (Rastrelli, 1998).

Propiedades culinarias del orégano

Por su parte Arcila *et al.*, (2005) que concuerda con CONAFOR (2005), mencionan los diferentes usos del orégano, se usa como condimento de alimentos, también en la elaboración de cosméticos, fármacos, licores y refresqueras. Motivos que lo han convertido en un producto de exportación. Adicionalmente, la organización mundial de la salud estima que cerca del 80 % de la población en el mundo usan 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 *Pseudomona aeruginosa*. Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial (Aligiannis *et al.*, 2001).

Los fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol 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 (Aligiannis *et al.*, 2001).

Efecto antiparasítico

Según Arcila *et al.*, (2004) y Oladimeji *et al.*, (2000). 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 artrópodo *Sarcoptes scabiei*; incluso en mayor grado que el bencil benzoato, la droga más comúnmente empleada contra estos parásitos.

Acción Estrogénica

Los flavonoides son un grupo de fitoquímicos que poseen actividad hormonal. La habilidad de proteger contra la osteoporosis y enfermedades cardiovasculares, acciones atribuidas a estrógenos endógenos como el 17 β -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 (Mauvais, 1986).

Se ha encontrado que algunos alimentos, hierbas y especias contienen una gran cantidad de sustancias con actividad estrogénica. Demostraron que 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 en vivo cuando es consumido a través de los alimentos (Zava *et al.*, 1998).

Capacidad antigenotóxica

El aceite esencial del orégano tiene la capacidad de inducir un incremento en la actividad de la enzima destoxicante glutatión S-transferasa cuando se administra oralmente, lo cual sugiere un potencial anti carcinogénico. Por otro lado, varios estudios clínicos han demostrado que *Oreganospp* 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 esto concuerda con (Lam y Zheng, 1991).

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 (Pascual, 2001 y Tárrega *et al.*, 1998).

Actividad insecticida

Para Arcila *et al.*, (2004). 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*.

Según Silva *et al.*, (2002), la mayoría de las especies vegetales utilizadas como insecticidas no eliminan al insecto por intoxicación, sino que generalmente inhiben su desarrollo normal, al actuar como repelentes o disuasivos de la alimentación u oviposición, lo cual hace que muchas veces se sobredimensionen sus efectos protectores. Para Pérez *et al.* (2007) este efecto repelente es determinado por la presencia de metabolitos secundarios, sustancias volátiles que pueden estar presentes en las partes estudiadas. Cuando estas sustancias son detectadas por los insectos, ejercen efecto en la conducta de los mismos y provocan la migración hacia otros lugares.

Para Isman (2000), menciona que los aceites esenciales de plantas representan una alternativa 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 domestica*.

Calidad de semilla

La calidad es una herramienta que consiste en tratar de hacer las cosas bien de una manera correcta y cumplir con la satisfacción de las necesidades de los consumidores. Por lo tanto tener semillas de buena calidad es fundamental para establecer una buena siembra, obteniendo mayor plántulas normales y es el primer paso para obtener un cultivo óptimo.

Se entiende por calidad de semillas a una serie de cualidades que deben reunir en conjunto y no en forma aislada; en general las semillas que poseen alta calidad presentan un

alto grado de pureza botánica, bajo contenido de humedad, alta sanidad, alta viabilidad, alto vigor, bajo nivel de daño mecánico, buen tamaño, buen peso, alto grado de uniformidad y buena apariencia. El nivel de calidad se establece mediante análisis especiales (Aragon, *et al.*, 2001).

Según Hampton (2001), define calidad como un "grado o padrón de excelencia", entonces la calidad de semillas puede ser vista como un padrón de excelencia en ciertos atributos que van a determinar el desempeño de la semilla en la siembra o en el almacén. En la práctica, la expresión "calidad de semillas" es utilizada libremente, para reflejar el valor de la semilla para propósitos específicos, el desempeño de la semilla debe estar a la altura de las expectativas del consumidor.

Por su parte Moreno (1996), menciona que la calidad de la semilla para germinar y producir una plántula normal es el principal atributo a considerar para evaluar su calidad y potencial; resulta indispensable considerar otros aspectos importantes relacionados con su calidad, manejo y comercialización. Entre estos están el muestreo, pureza física y varietal, el vigor, contenido de humedad y su condición fitosanitaria.

Influencia de la calidad fisiológica de la semilla en la germinación es necesaria para obtener una alta capacidad de la misma y vigor; tal concepto se refiere a la habilidad innata de germinar bajo condiciones óptimas durante los análisis de la semilla (Harada, 1997).

Además, el tamaño de las semillas frecuentemente desempeña un importante papel; las semillas relativamente grandes o pesadas son un indicativo de abundantes reservas alimenticias procedentes de la planta madre. Es por esto que el tamaño de la semilla y de la planta está normalmente correlacionados (Sorensen y Campbell, 1993).

La calidad fisiológica de la semilla se puede conocer a través de la germinación y vigor. Por germinación se entiende el proceso fisiológico donde la semilla produce una plántula con sus partes esenciales normales (radícula y plúmula). Durante las fases iniciales

de la germinación la semilla se nutre solamente de sus reservas; por lo tanto, el sustrato de germinación no requiere nutrientes, debe ser estéril e inerte, capaz de mantener y distribuir bien la humedad, facilitar buena aireación y tener un pH neutral (6.0-7.5). Las condiciones de germinación, así como los rangos de tolerancia bajo los cuales las semillas germinarán, varían con la especie y están relacionados con el ambiente en el cual la planta normalmente crece. Las especies templadas de alta altitud pueden germinar bajo temperaturas de solo unos pocos grados Celsius, mientras que la mayoría de las especies tropicales de tierras bajas requieren temperaturas de 20°C o más para su germinación (ISTA, 1999).

La capacidad de germinar una semilla está influenciada por varios factores (momento de la cosecha, ataque de plagas y enfermedades, secado y condiciones de almacenamiento). Este elemento es fácil de medir. La prueba de germinación ayuda a determinar la capacidad que tiene la semilla para producir plantas normales y vigorosas, bajo condiciones favorables de producción. Los resultados de esta prueba son de mucha utilidad para determinar la cantidad de semilla que utilizará en la siembra. Si de cada 100 semillas que se siembren, germinan al menos 80 y son plantas sanas y vigorosas, se puede decir que la germinación de la semilla es buena (McDonald, 1998).

Para la AOSA, (1983) define como aquellas propiedades de las semillas, las cuales determinan una rápida y uniforme emergencia para el desarrollo de plántulas normales en un amplio rango de condiciones de campo o de vivero.

El vigor es la fuerza con que una planta germina o emerge en condiciones de estrés, su medición es complicada. El vigor es una característica genética de la planta expresada a nivel de semilla, que es afectada por factores exógenos como la nutrición de la planta madre, daños mecánicos ocasionados durante la cosecha, el procesamiento y el almacenamiento (McDonald 1998).

III. MATERIALES Y METODOS

Localización del área experimental

La investigación se llevó a cabo dentro de las instalaciones del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS) y en el Departamento de Parasitología, ambos ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Materiales

Para establecer el experimento en la generación de insectos y en la aplicación de aceites se utilizó semilla de maíz criollo producida en los terrenos experimentales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, cosechada en el ciclo de Otoño- Invierno de 2010, libre de impurezas, sin tratamiento químico y con un contenido de humedad 12 ± 1 %.

Los aceites estudiados fueron timol y carvacrol de orégano (*lippia graveolens* H.B.K.) extraídos por el Centro de Investigación para los Recursos Naturales (CIRENA) en Saltaices, Chihuahua, México.

Los insectos (*Sitophilus zeamais*) utilizados en el estudio fueron de una etapa adulta con características de color marrón oscuro casi negro, con cuatro manchas rojizas bien definidas en los élitros, menos brillante que el gorgojo del trigo, antenas con 8

articulaciones, protórax recubierto con picaduras redondas que forman una hilera regular a lo largo del borde anterior y presencia de alas posteriores.

Metodología

El presente estudio se estableció en tres etapas, una en el incremento de insectos *Sitophilus zeamais* hasta llegar a etapa adulto. En la segunda etapa, se planteo un bioensayo evaluando la mortandad de los insectos *Sitophilus zeamais* aplicando ocho dosis diferentes de mezclas de aceites de timol y carvacrol de orégano incluyendo un testigo a diferentes tiempos. La tercera etapa se incrementó el número de tratamientos, estableciendo dieciséis en total incluyendo un testigo con agua, aumentando las concentraciones hasta 5000 ppm determinando la mortalidad de los insectos y la calidad fisiológica de la semilla. Además se realizó un estudio sobre el grado de repelencia en el gorgojo de maíz *Sitophilus zeamais* utilizando los aceites de timol y carvacrol de orégano originales.

Etapas 1

Incremento de insectos

Para el incremento de los insectos *Sitophilus zeamais*, se partió de 100 insectos de etapa adulta sin sexar, los cuales se colocaron en frascos de vidrio con capacidad de 4 litros conteniendo 2 k de grano de maíz criollo con un contenido de humedad de 13 ± 1 % y llevados a una cámara bioclimática marca SL SHEL LAB, a temperatura de 28 ± 1 °C con un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, durante un mes, tiempo y condiciones optimas para la reproducción y mantenimiento de estos insectos; en el transcurso de este tiempo, se movieron y limpiaron los frascos constantemente para evitar

la acumulación de residuos que pudieran promover la contaminación del grano dada por hongos u otros insectos.

Etapa 2

Bioensayo

Para el bioensayo, se realizó un estudio de la ventana biológica de los seres vivos (insectos) llevado a cabo solo en condiciones de laboratorio, con la finalidad de obtener las concentraciones sobre salientes en la mortandad de insectos y que no afecte la calidad fisiológica de semilla de maíz, para posteriormente ser utilizados en la complementación de este experimento.

Los tratamientos aplicados en la semilla fueron siete dosis de mezclas de los aceites de timol y carvacrol de orégano, incluyendo un testigo con agua, en tres repeticiones en cada tratamiento, descritos en el Cuadro 3.1. Los aceites fueron diluidos con agua más tween 20, el cual es un producto químico que ayuda a la dispersión o solubilización de aceites es decir que ayuda a homogenizar el aceite con el agua.

Cuadro 3.1. Tratamientos del bioensayo (etapa 2) de las mezclas de aceites timol y carvacrol de orégano. UAAAN, 2010.

Tratamientos	Aceites	
	Timol (ppm)	Carvacrol (ppm)
1	1000	0
2	800	200
3	600	400
4	400	600
5	200	800
6	0	1000
7	1000	1000
8 (testigo)	0	0

La cantidad de maíz utilizada en cada unidad experimental fue de 70 g; colocando cada cantidad y aplicando el tratamiento correspondiente en frascos de 250 g. Una vez tratada la semilla se dejó reposar durante 24 horas y posteriormente se le agregaron diez insectos sin sexar.

Evaluando la mortandad de insectos a las 24, 48 y 72 horas de ser expuestos en los tratamientos y consecutivamente se evaluó la calidad fisiológica de la semilla mediante las pruebas de capacidad de germinación.

Una vez concluido el bioensayo, se determinaron las mezclas más sobresalientes y se implementaron mayor número de tratamientos para la siguiente etapa del estudio.

Etapa 3

Establecimiento del experimento

De acuerdo con los resultados del bioensayo, el tratamiento que sobresalió por el mayor porcentaje de mortalidad fue la mezcla de timol y carvacrol ambos a 1000 ppm, por tal motivo, el establecimiento de la etapa tres comenzó a partir de esta mezcla como inicial y llegando a implementar hasta quince tratamientos más un testigo, teniendo dosis desde 1000 hasta 5000 ppm estableciendo tres repeticiones por cada uno y descritos en el siguiente Cuadro 3.2.

Cuadro 3.2 Tratamientos aplicados en la etapa 3 del estudio de mezclas de aceites timol y carvacrol de orégano en semilla de maíz criolla. UAAAN, 2010.

Tratamientos	Aceites de orégano	
	Timol (ppm)	Carvacrol (ppm)
1	5000	0
2	4000	1000
3	3000	2000
4	2000	3000
5	1000	4000
6	0	5000
7	4000	0
8	3000	1000
9	2000	2000
10	1000	3000
11	0	4000
12	3000	0
13	2000	1000
14	1000	2000
15	0	3000
16 (Testigo)	0	0

En el presente estudio se establecieron los tratamientos por duplicado, para realizar dos muestreos, uno inicial a las 24 horas y otro a los 30 días después de haber sido conservados en refrigeración de 7-10°C.

La aplicación de los tratamientos fue la misma metodología que en el bioensayo, tratando 70 g de semilla por cada tratamiento por duplicado (dos frascos por tratamiento), colocándola en frascos de 250 g y dejando reposar durante 24 horas en medio ambiente.

En el primer muestreo, una vez pasado el tiempo se agregó diez insectos sin sexar por frasco y se determinó la mortandad de insectos a las 24, 48 y 72 horas de ser expuestos en los tratamientos; así como la calidad fisiológica de la semilla mediante las pruebas de capacidad de germinación y vigor.

En el segundo muestreo a los 30 días después de haber aplicado los tratamientos y ser llevados a una Cámara fría (refrigeración) de 7-10 °C, se sacaron los frascos de la cámara y se dejaron aclimatar a medio ambiente y se agregaron diez insectos sin sexar por frasco. Se evaluó la mortandad de insectos a las 24, 48 y 72 horas de ser expuestos en los tratamientos, además de la calidad fisiológica de la semilla mediante las pruebas de capacidad de germinación y vigor (longitud media de plúmula, longitud media de radícula y peso seco).

En la evaluación de repelencia en *Sitophilus zeamais*, se evaluaron 5 dosis de los aceites timol y carvacrol de 200, 400, 600, 800, 1000 ppm respectivamente, empleando 3 repeticiones por cada dosis y aceite.

Parámetros evaluados

Mortalidad de *Sitophilus zeamais*

Para la evaluación de mortalidad en este experimento, una vez agregado los diez insectos en cada uno de los frascos de cada unidad experimental se procedió a la toma de datos a las 24, 48 y 72 horas, utilizando una lámpara y una criba para contabilizar el número de insectos muertos y vivos, donde un insecto al sentir el calor de la lámpara reacciona (vivo), mientras que los insectos que no tenían ningún reflejo eran considerados como muertos.

Evaluación de repelencia en *Sitophilus zeamais*.

Se aplicaron cada dosis en papel filtro Wathan No. 1 colocado dentro de una caja Petri y se dejó reposar durante 24 horas para eliminar la humedad del papel.

En una caja de plástico de 21x 19x 7cm se colocaron en cada extremo dos cajas Petri una con la dosis de aceite y en otra sin aceite, a ambas se le agregaron 100g de semillas de maíz criollo y en el centro de la caja de plástico se colocaron 15 insectos y se cerró la caja. Se evaluaron los conteos de repelencia a las 6, 12, 24 y 48 horas. Teniendo como repelencia el número de insectos que permanecían fuera de la caja Petri con el papel filtro tratado con el aceite.

Calidad Fisiológica

Capacidad de germinación

Para determinar la capacidad de germinación se realizó la prueba de germinación estándar con forma a las reglas internacionales de la ISTA (2004). Para ello se utilizaron 25 semillas en cada repetición por cada tratamiento estudiado, sembrando con el embrión hacia debajo de forma equidistante sobre una línea marcada en el centro del papel de germinación “Anchor” húmedo, cubriendo la semilla con otro papel, posteriormente fue enrollando a formar un taco.

Una vez realizada la siembra los tacos fueron colocados en una bolsa de polietileno para ser llevados a una cámara germinadora Marca Biotronette a una temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ con 16 horas luz y 8 horas oscuridad por siete días, al cuarto día de la siembra se realizó el primer conteo, en el cual se cuantificaron las plántulas normales (PN), posteriormente al séptimo día se realizó el conteo final de germinación, contabilizando el número de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG).

Vigor

Longitud media de plúmula

Para esta variable primeramente en una hoja de papel de germinación “Anchor” se trazó una línea horizontal a la mitad de la hoja, y a partir de ella se marcaron otras cinco líneas paralelas con distancia de dos centímetros de línea a línea. Se sembraron 25 semillas de cada tratamiento en 3 repeticiones, sobre la primera línea con ayuda de una cinta de doble pegamento, no toxica en la hoja de papel para evitar el movimiento, colocando la

semilla con el embrión hacia abajo, una vez sembradas se humedeció el papel con las semillas, se cubrió con otro papel húmedo y se enrolló a formar un “taco”, después se colocaron en bolsas de polietileno para ser llevados en una cámara germinadora Marca Biotronette a una temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ con 16 horas luz y 8 horas oscuridad, a los siete días se evaluó la prueba considerando las plántulas normales. Se contaron el número de plúmulas situadas en cada línea paralela. A las líneas se les dio un valor promedio de 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13cm, registrando el número de plántulas de cada paralela.

El tamaño de plúmula dado por cada valor de paralela se multiplico por el número de plántulas encontradas en cada paralela correspondiente, se sumaron todos los productos y se dividió entre el número de semillas sembradas (25), como la ecuación siguiente:

$$L = \frac{(nx1 + nx3 + \dots + nx13)}{25}$$

Donde:

L = Longitud media de plúmula en cm.

N =Numero de plúmulas entre dos paralelas.

X = Distancia del punto medio de paralelas a línea central.

Longitud media de radícula

Esta variable se determinó considerando las plántulas normales resultantes de la longitud media de plúmula, midiendo la longitud de la raíz principal a partir del nudo seminal hasta terminar la raíz con ayuda de una cinta métrica, se sumaron todos los valores y se promediaron entre el número de plántulas normales, registrando en centímetros.

Tasa de crecimiento de plántula (Peso seco)

Para la variable tasa de crecimiento de plántula se utilizaron tres repeticiones de 25 semillas por tratamiento, sembrando en una hoja de papel húmeda, posteriormente se cubrió con otra para enrollar en forma de taco por último se colocó dentro de una bolsa de plástico para pasarlo en una cámara con las condiciones de 25°C con 8 horas luz y 12 horas oscuridad por 7 días, se evaluaron las plántulas normales de la prueba de capacidad de germinación, descartando el resto de carióspside y colocando todas las plántulas en una bolsa de papel destreza perforada. Las bolsas se llevaron a estufa a 65±1 °C durante 24 horas, pasado en el tiempo se colocaron en un desecador por 15 minutos, posteriormente se pesaron en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, registrando el peso en gramos y dividiéndolo entre el número de plántulas normales, determinando la tasa de crecimiento en miligramos por plántula (mg plántula⁻¹).

Análisis estadísticos

El diseño experimental fue bajo un diseño de parcelas divididas. En total se evaluaron 16 tratamientos con 3 repeticiones cada uno en los dos muestreos. Los porcentajes de mortandad fueron transformados por medio de la fórmula de (Bartlett 1947) $y = \text{arc sen} \sqrt{\frac{X}{100}}$ siendo y el dato transformado y X el porcentaje de mortandad, cuyo modelo lineal es el siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + p_i + \alpha_{ij} + p_k + c_l + pc_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$$Y_{ijkl} = \text{Valor observado.}$$

μ = Efecto de la media.

P_i = Efecto del i-ésimo periodo de almacenamiento.

α_{ij} = Error de la parcela grande.

P_k = Efecto del k-ésimo productos.

C_l = Efecto del l-ésima concentraciones.

PC_{kl} = Efecto de la interacción i-ésimo productos por k-ésimo concentraciones.

ε_{ijkl} = Efecto del error experimental.

Para procesar los datos obtenidos en los estudios se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.0 (2000). Posteriormente se compararon las medias de los tratamientos mediante una prueba de LSD a un nivel de significancia de un 5%.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez analizados los datos del presente trabajo de investigación, se presentan los resultados obtenidos del análisis estadísticos de cada una de las variables evaluadas en cada uno de los muestreos realizados, tanto para mortalidad y repelencia de los insectos (*Sitophilus zeamais*) y para calidad fisiológica de la semilla tratada con mezclas de los aceites de orégano (timol y carvacrol).

Evaluación de la mortandad de insectos (*Sitophilus zeamais*)

Etapa 2 (bioensayo)

Los resultados de esta etapa mostraron que la mezcla de los aceites del orégano de timol y carvacrol a 1000 ppm cada uno, obtuvieron resultados solo el 10 % de mortalidad a las primeras 24 horas, para las 48 y 72 horas no muestra efecto y para los demás tratamientos tampoco se observaron mortalidad de insectos.

Etapa 3 (Experimento)

El análisis de varianza realizado para los tratamientos timol, carvacrol y su interacción del primer muestreo, mostraron diferencias altamente significativas en las evaluaciones realiza a las 24 y 48 horas y significativas a las 72 horas, mientras que a esta último tiempo de evaluación la interacción de timol y carvacrol resultó no significativo. Lo

anterior indica que las diferencias altamente significativas en cada una de las fuentes de variación son debido a que el efecto en la mortalidad del *Sitophilus zeamais* fueron diferentes los tratamientos y los aceites (timol y carvacrol), el caso del segundo muestreo los tratamientos, timol y carvacrol (aceites) y la interacción de los aceites, en la evaluación de las 24 horas solo en carvacrol se encontró diferencias significativas ($P \leq 0.01$), así mismo a las 48 horas tuvieron diferencias altamente significativos, y por último a las 72 horas se mostraron como no significativos (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Cuadrados medios del análisis de varianza de la mortalidad de *Sitophilus zeamais* en los dos muestreos en la evaluación de las 24, 48 y 72 horas.

Fuentes de variación	GL	Primer muestreo			Segundo muestreo		
		Horas			Horas		
		24	48	72	24	48	72
Tratamientos	15	207.83**	170.41**	114.65*	40.90*	89.81**	22.57 ^{ns}
Timol	5	83.23**	107.29**	117.13*	13.63 ^{ns}	56.89**	26.33 ^{ns}
Carvacrol	5	96.88**	273.26**	117.08*	90.75**	47.49**	20.68 ^{ns}
Timol*Carvacrol	5	443.37**	130.58**	109.72 ^{ns}	18.33*	165.04**	20.68 ^{ns}
Error	17	0	0	41.35	17.01	0	33.19
C.V.		0	0	99.31	215.1	0	375.7

C.V. = Coeficiente de variación; ** = Significativo ($P \leq 0.01$); * = Significativo ($P \leq 0.05$); NS = No significativo. LSD=0.05.

En el Cuadro 4.2 se presentan los resultados de la comparación de medias obtenidos en la mortalidad de insectos y en donde se realizaron tres evaluaciones a las 24, 48 y 72 horas en cada muestreo.

En lo que respecta del primer muestreo, en la variable de mortalidad a las 24 horas, se tiene estadísticamente el tratamiento 10 que alcanza el mayor valor con 21.13 %, mientras que los tratamientos 7, 8 y 11 muestran valores iguales teniendo el 18.40 %, y para los tratamientos 1, 2, 3, 4, 12, 13, 14, 15, y 16 (testigo) no obtienen mortalidad de insectos.

Para la evaluación de mortalidad a las 48 hrs del primer muestreo, estadísticamente se puede demostrar nuevamente que el tratamiento 10 alcanza un valor alto con 21.13 %, le siguen los tratamientos 3 y 4 con el 18.40 % de mortalidad de insectos. Mientras para los tratamientos 5 y 6 tiene el valor de 15 %, así mismo para los tratamientos 9 y 11 alcanzan que alcanzan valor de 12.27 %. Y por lo tanto los tratamientos 7, 12, 13, 15 y 16 muestran que no tuvieron efecto en la mortandad de los insectos.

Y para la evaluación de las 72 horas del primer muestreo, se puede presentar con diferentes grupos estadísticos, se tiene el grupo A que lo conforma el tratamiento 9 que presenta un valor más alto alcanzando el 18.40 % de mortalidad, mientras los tratamientos 5, 6, 10 y 14 obtienen el 12.26, 12.26, 12.26 y 15.0 %, aunque el tratamiento 14 numéricamente es mayor, sin embargo el tratamiento 1 obtiene el porcentaje de 8.86%, también se tiene los tratamientos 7, 8, 11 y 12 teniendo el valor de 6.13%, y para el grupo C constituidos por los tratamientos 2, 3, 4, 13, 15 y 16. Se mostraron que no hubo efecto teniendo 0 % de mortalidad de insectos. Iannaconeet *al.*, (2005), obtiene resultados similares en la evaluación del efecto biocida de cuatro plantas: culantro *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae), tara *Caesalpinia spinosa* (Mol.) Kuntze (Fabaceae), amor seco *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) y saúco *Sambucus peruviana* HBK (Caprifoliaceae) sobre adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsk (Curculionidae) y *Stegobium paniceum* (Anobiidae) en la mortandad bajo condiciones de laboratorio. A las máximas concentraciones empleadas (20 % p/v), los extractos acuosos de *C. sativum*, *C. spinosa*, *B. pilosa* y *S. peruviana* no mostraron efectos significativos en comparación con el control sobre ambas especies de gorgojos. Sólo los polvos secos de *C. sativum* produjeron un 25 % de mortandad en *S. zeamais*, y en cambio, *C. sativum* ocasionó sobre *S. paniceum*, un 15 % de mortandad, a las más altas dosis ensayadas (1,6g y 10g de maíz-1). En adición, al evaluar *C. spinosa*, bajo infusión acuosa (20 % p/v) sobre *S. zeamais* se produjo un 17,5 % de mortandad.

Para el segundo muestreo de la evaluación de las 24 horas se puede observar estadísticamente del grupo A, que solo está conformado por el tratamiento 6 alcanza el

mayor valor con 12.26%, para el caso de los tratamientos 4, 7 y 10 solo obtiene el 6.13 %, y por ultimo tenemos el grupo B que son los tratamientos 1, 2, 3, 5, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15 y 16 con 0% de mortalidad de *Sitophilus zeamais*.

Con la evaluación de las 48 horas del segundo muestreo, el grupo A conformado solo por el tratamiento 15 estadísticamente obtuvo el mayor número teniendo el 18.40 % de mortalidad, seguido por el grupo B formado solo por el tratamientos 8 teniendo un valor de 12.27 %, para el grupo C están los tratamientos 3 y 5 reportando con 6.13 % y por último el grupo D los tratamientos que los integran mostraron el 0 % de mortalidad de insectos.

En la evaluación de las 72 horas del segundo muestreo, se observa que la mayoría de los tratamientos ya no tuvieron efecto para la mortalidad de *S. zeamais*, estadísticamente todos los tratamientos son iguales formando solo un grupo, pero numéricamente solo cuatro de los tratamientos reportan efecto de mortalidad que son el 2, 4, 8, y 12, alcanzando solo el 6.13 % por lo tanto los demás tiene el 0%. Los resultados de estas tres evaluaciones (24, 48 y 72 hrs) del segundo muestreo se muestran claramente que se obtiene porcentajes de mortalidad bajos. Sin embargo, en la investigación de Salvadores *et al.*, (2007), obtiene valores significativas en la evaluación de polvo de *Origanum vulgare* L. (orégano) para el control *S. zeamaiz* en trigo, registrando valores de mortalidad de adulto de *S. zeamaiz* a 41.7 % a la concentración de 0.5 %, 63 % a la concentración de 1 %, 69.5 % a la concentración de 2 % y 81 % a la concentración de 4 %. Por lo tanto en polvo tiene más actividad de insecticida.

Cuadro 4.2. Comparación de medias de mortalidad de *Sitophilus zeamais* con la aplicación de diferentes tratamientos en los dos muestreos con la evaluación a las 24, 48 y 72 horas.

Tratamientos	Primer muestreo			Segundo muestreo		
	Horas			Horas		
	24	48	72	24	48	72
1	0 e	6.13 e	8.86 abc	0 b	0 d	0 a
2	0 e	6.13 e	0 c	0 b	0 d	6.13 a
3	0 e	18.40 b	0 c	0 b	6.13 c	0 a
4	0 e	18.40 b	0 c	6.13 ab	0 d	6.13 a
5	6.13 d	15.0 c	12.26 ab	0 b	6.13 c	0 a
6	11.07 c	15.0 c	12.26 ab	12.26 a	0 d	0 a
7	18.40 b	0 f	6.13 bc	6.13 ab	0 d	0 a
8	18.40 b	6.13 e	6.13 bc	0 b	12.27 b	6.13 a
9	6.13 d	12.27 d	18.40 a	0 b	0 d	0 a
10	21.13 a	21.13 a	12.26 ab	6.13 ab	0 d	0 a
11	18.40 b	12.27 d	6.13 bc	0 b	0 d	0 a
12	0 e	0 f	6.13 bc	0 b	0 d	6.13 a
13	0 e	0 f	0 c	0 b	0 d	0 a
14	0 e	6.13 e	15.0 ab	0 b	0 d	0 a
15	0 e	0 f	0 c	0 b	18.40 a	0 a
16 (Testigo)	0 e	0 f	0 c	0 b	0 d	0 a

1= 5000-0 ppm, 2= 4000-1000, 3= 3000-2000, 4= 2000-3000, 5= 1000-4000, 6=0-5000, 7= 4000-0, 8= 3000-1000, 9= 2000-2000, 10= 1000-3000, 11= 0-4000, 12= 3000-0, 13= 2000-1000, 14= 1000-2000, 15= 0-3000, 16= Testigo. Significa que se aplico primero timol y carvacrol para formar la mezcla y todos se aplico en ppm. Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente (LSD = 0.05).

La Figura 4.1 muestra los resultados de la mortalidad de *Sitophilus zeamais* por efecto de la aplicación de los 15 tratamientos y un testigo. En el primer muestreo, en la evaluación de las 24 horas, el tratamiento 10 alcanza el mayor numero con 21.13 %, así como intermedio tenemos los tratamientos 7, 8 y 11 que se igualan a 18.40 %, y por último se tienen que los tratamientos 1, 2, 3, 4, 12, 13, 14, 15 y 16 son los que no tuvieron efecto en el porcentaje de mortalidad. En la evaluación de las 48 horas se muestra que nuevamente el tratamiento 10 obtiene el mayor numero con 21.13%, por el cual los tratamientos 5 y 6 alcanzan 15 % y así mismo tratamientos 7, 12, 13, 15 y 16 son los que obtuvieron 0 %. Y para las de 72 horas se muestra que el tratamiento 9 estadísticamente alcanza 18.40 % y del los tratamientos 2, 3, 4, 13, 15 y 16 se obtiene 0 % de mortalidad. En

el segundo muestreo, para la evaluación de las 24 hrs, solo el tratamiento 6 alcanza el mayor resultado con 12.29% para los tratamientos 4, 7, y 10 alcanzan el valor de 6.13 % y para los demás tratamientos no se encontraron mortalidad de insectos. En la evaluación de 48 horas, la mayoría de los tratamientos tiene el 0 % de mortalidad de insectos, para el tratamiento 15 obtiene el 18.40 %, seguido por el tratamiento 8 con 12.27 %, así mismo se igualan los tratamientos 3 y 5 con 6.13 %. Para la evaluación de las 72 horas solo existen cuatro tratamientos que tuvieron mortalidad de insectos que son los 2, 4, 8 y 12 con 6.13 %.

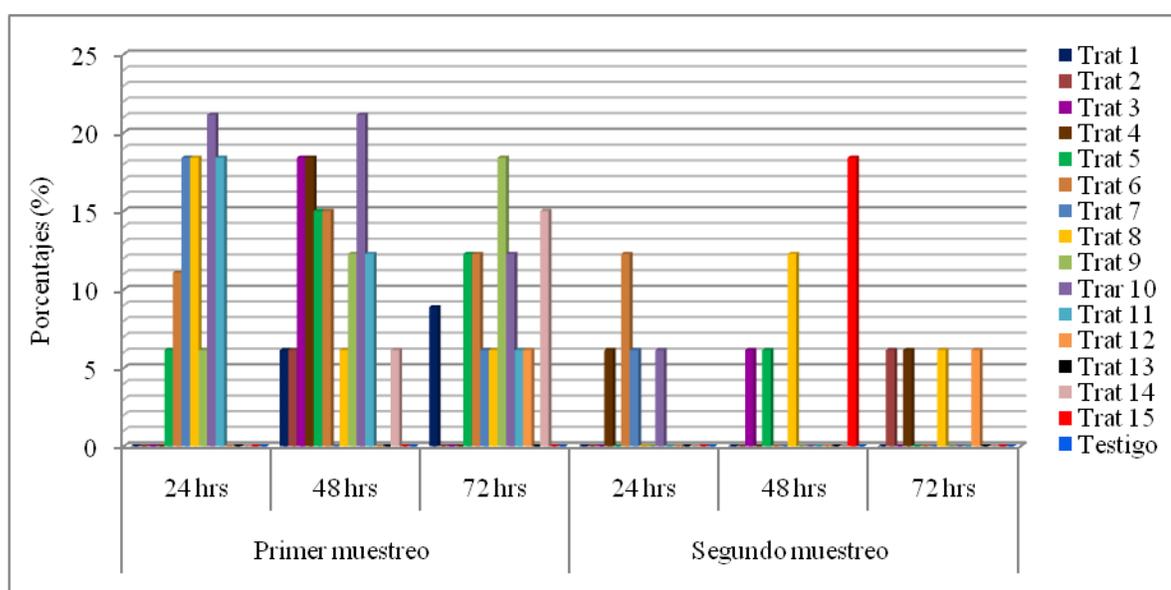


Figura 4.1. Mortalidad del *Sitophilus zeamais* a las 24, 48 y 72 horas con los diferentes tratamientos en maíz almacenado de los dos muestreos.

Evaluación de repelencia de insectos (*Sitophilus zeamais*)

Como se observa en el Cuadro 4.3 el metabolito secundario timol, en los resultados para todos los casos muestra el mejor efecto a 1000 ppm a través del tiempo del experimento, observándose una tendencia normal en cada conteo realizado, más no una secuencia normal en el efecto de repelencia ya que subía y bajaba la repelencia a través del tiempo de los conteos. Viglianco *et al.*, (2006), muestra en su trabajo resultados similares del comportamiento de *Sitophilus orizae* con diferentes extractos vegetales a través del ensayo, obteniendo los porcentajes más altos con el extracto de *Capparis atamisquea* Kuntze (Capparaceae). Pascual *et al.*, 2004, muestra que para el caso de varios insectos de granos almacenados tratados con aceites esenciales o metabolitos secundarios como linalol o con mezclas de linalol y metil chavicol pueden ser una buena alternativa para su uso como repelentes.

Cuadro 4.3. Porcentajes de repelencia *Sitophilus zeamais* sobre semilla de maíz tratado con timol en laboratorio a través del tiempo.

ppm	Horas			
	6	12	24	48
200	46.66	40	26.66	40
400	53.33	46.66	40	53.33
600	60	53.33	60	60
800	66.66	60	63.33	66.66
1000	80	66.66	73.33	73.33

En la Figura 4.2 muestra claramente la tendencia del efecto de timol como se observa que la dosis de 1000 ppm es la que tuvo mayor porcentaje de repelencia a las 6 horas alcanzando el 80 %, a través del tiempo exactamente a las 12 horas tiende bajar a 66.66 % para después a las 24 y 48 horas asciende y permanece constante a los 73.33 %, pero aun así se encuentra arriba de los demás dosis. Y para la dosis de 200 ppm pasa lo contrario a

través del tiempo es la que alcanza menores porcentajes de repelencia. Cabe mencionar que a mayor dosis mayor es el efecto de la repelencia a las primeras horas.

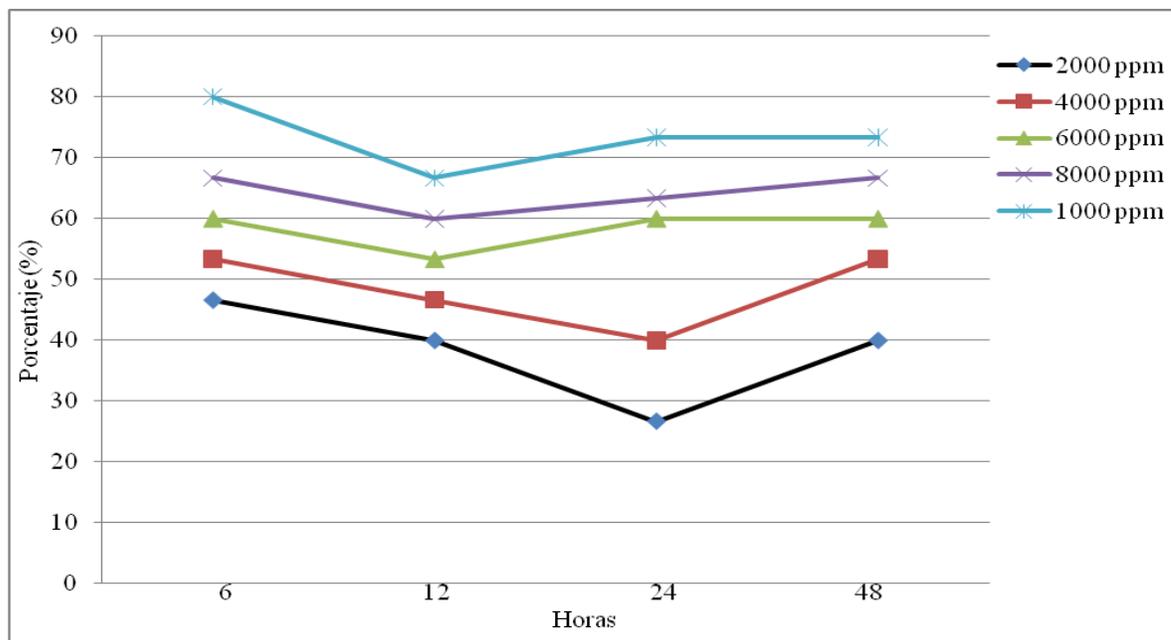


Figura 4.2. Repelencia de *Sitophilus zeamais* tratado sobre semillas de maíz con timol bajo condiciones de laboratorio.

En el Cuadro 4.4 muestran el efecto del tratamiento con carvacrol, el metabolito secundario presenta buen efecto para el control de insectos como en este caso que se logro obtener el 100 % de repelencia a 1000 ppm a las 6 hrs, mostrando un comportamiento similar a través del tiempo y caso contrario el nivel de repelencia más bajos es de 53.33 a las 12 y 25 hrs de las dosis de 200 ppm. Pérez y Pascual, (1999), muestran porcentajes similares observando que el aceite de *Chrysanthemum coronarium L* tiene un efecto repelente en adultos de *Tribolium castaneum* muy significativo para todos los tratamientos, apreciándose un aumento de la repelencia con la dosis hasta llegar a 15 μ L, a partir del cual los porcentajes de repelencia se mantienen superiores al 90 %, en un mismo trabajo este con *Acanthoscelides obtectus* observaron una repelencia del 50 % a una dosis de 1 μ L a las 24 hrs de la realización del ensayo, mostrando un efecto diferente del aceite con *A.obtectus*.

Cuadro 4.4. Porcentajes de repelencia de *Sitophilus zeamais* sobre semilla de maíz tratado con carvacrol en laboratorio a través del tiempo.

ppm	Horas			
	6	12	24	48
200	60	53.33	53.33	60
400	66.66	66.66	66.66	66.66
600	80	73.33	73.33	73.33
800	93.33	80	86.66	93.33
1000	100	93.33	93.33	93.33

Este efecto repelente pudo estar determinado por la presencia del metabolito secundario, sustancia volátil que puede estar presente en el producto. Cuando estas sustancias son detectadas por los insectos, ejercen efecto en la conducta de los mismos y provocan la migración hacia otros lugares (Pérez *et al.* 2007).

En la Figura 4.3 se muestra los resultados de cada dosis empleados de carvacrol así como las dosis 1000 ppm muestra un excelente resultado a las 6 horas alcanzando un 100 % de repelencia pero a las 12 horas desciende a 93.33 % de repelencia así se mantiene durante el transcurso del tiempo en forma general se puede decir que a mayor son las dosis, mejor son los resultados encontrados en las primeras horas de su aplicación. También se puede observar que la dosis de 200 ppm fue el que alcanzó el porcentaje más bajo, a las 6 horas obtiene el 60 %, para las 12 horas se muestra una tendencia a la baja así también para a las 24 hrs, para las 48 hrs tiende a subir alcanzando el 60 % de repelencia al *Sitophilus zeamais* en semilla de maíz almacenada.

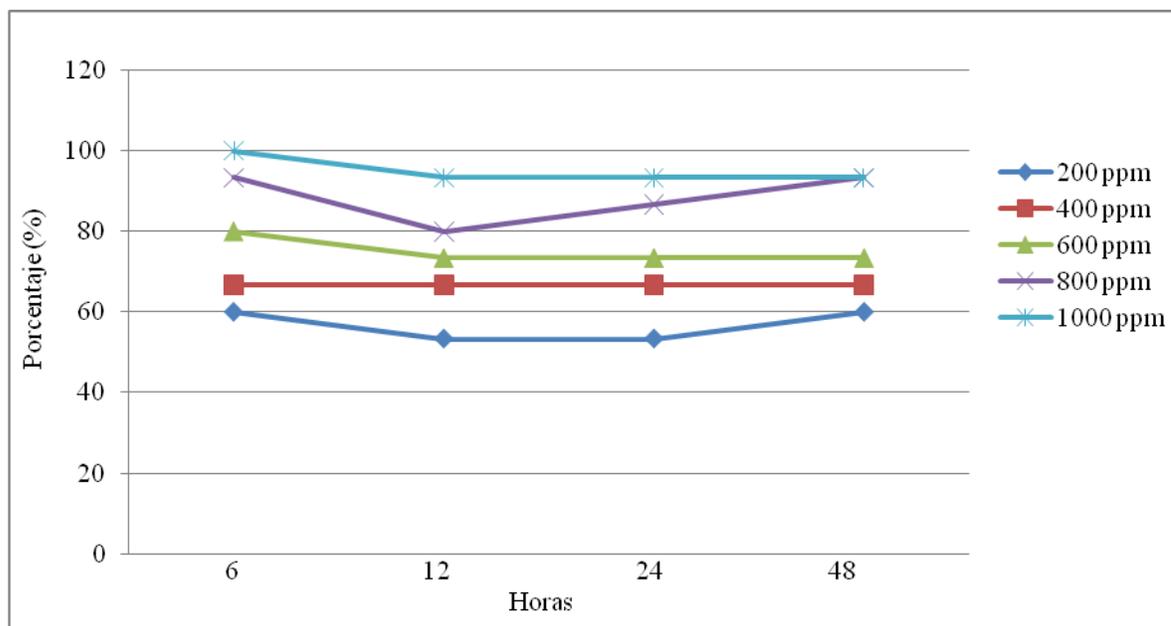


Figura 4.3. Repelencia de *Sitophilus zeamais* tratado sobre semillas de maíz con carvacrol bajo condiciones de laboratorio.

Evaluación de la calidad fisiológica de la semilla de maíz

Primer muestreo

El Cuadro 4.5 presenta los resultados obtenidos de los cuadrados medios del análisis de varianza, correspondiente a los tratamientos, timol, carvacrol y en la interacción de los aceites del primer muestreo, en lo que se refiere a las variables de germinación, plántulas anormales, semillas sin germinar, muestra que no hubo diferencias significativas en ninguno de las fuentes de variación.

Cuadro 4.5. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de la capacidad de germinación estándar en el primer muestreo.

Fuentes de variación	GL	Germinación (%)	Plántulas anormales (%)	Semillas sin germinar (%)
Tratamientos	15	18.40 ^{ns}	9.15 ^{ns}	10.31 ^{ns}
Timol	5	11.46 ^{ns}	14.84 ^{ns}	5.15 ^{ns}
Carvacrol	5	36.71 ^{ns}	15.91 ^{ns}	12.26 ^{ns}
Timol*Carvacrol	5	7.02 ^{ns}	0 ^{ns}	13.51 ^{ns}
Error	17	14.5	8.23	5.96
% C.V		4.01	101.28	104.63

GL = Grados de Libertada; C.V= Coeficiente de Variación; ** = Significativo ($P \leq 0.01$); * = Significativo ($P \leq 0.05$); NS = No significativo. LSD = 0.05.

Para la germinación estándar del primer muestreo en términos estadísticos todos los tratamientos son iguales formando así solo el grupo A y dentro del grupo A aritméticamente el tratamiento 6 fue con mayor porcentaje de germinación obteniendo un 98.66 % superando al testigo ya que solo obtuvo el 96.0 %, así también podemos distinguir que el tratamiento 11 obtiene el porcentaje más bajo con 88.0 % y cabe mencionar que los tratamientos 4, 5, 14 y 15 obtuvieron el mismo porcentaje con 93.33% de germinación. En la investigación de Ahmed y Ahamad (1992), afirman que los aceites del orégano no afectan la viabilidad de las semillas así mismo probaron la eficacia de varias plantas con propiedades medicinales y de uso culinario contra *C. chinensis*, llegando una conclusión que las especies vegetales, aparte de no afectar la germinación, no presentan toxicidad para mamíferos.

En plántulas anormales en términos estadísticos todos los tratamiento nuevamente se muestran iguales, sin embargo numéricamente expresan diferentes números de porcentajes, cuando el tratamiento cuatro donde se nota que tiene un elevado porcentaje de plántulas anormales alcanzando el 6.66 %, seguido por el tratamiento cinco con 5.33 %, superando el

testigo que en este caso solo obtiene el 1.33 %, así también se puede observar que el tratamiento dos alcanza 0 % de plántulas anormales.

Y para la variable de semillas sin germinar se obtienen datos estadísticamente diferentes así sobresaliendo el tratamiento 11 con 8 %, caso contrario tenemos los tratamientos 4 y 6 con 0 % de semillas sin germinar, y los demás tratamientos estadísticamente son iguales pero numéricamente diferentes, esto no quiere decir de que a mayor porcentaje es la mejor resultado es todo lo contrario al tener 0% suele ser la mejor ya que es en donde no hubo efecto del tratamiento, como se muestra en el Cuadro 4.6.

Cuadro 4.6. Comparación de medias para la capacidad de germinación en el primer muestreo.

Tratamientos	Germinación (%)	Plántulas anormales (%)	Semillas sin germinar (%)
1	94.66 a	2.66 a	2.66 ab
2	97.33 a	0 a	2.66 ab
3	96.00 a	1.33 a	2.66 ab
4	93.33 a	6.66 a	0 b
5	93.33 a	5.33 a	1.33 ab
6	98.66 a	1.33 a	0 b
7	97.33 a	1.33 a	1.33 b
8	94.66 a	1.33 a	4.00 ab
9	93.33 a	4.00 a	2.66 ab
10	96.00 a	2.66 a	1.33 ab
11	88.00 a	4.00 a	8.00 a
12	96.00 a	2.66 a	1.33 ab
13	96.00 a	2.66 a	1.33 ab
14	93.33 a	4.00 a	2.66 ab
15	93.33 a	4.00 a	2.66 ab
16 (Testigo)	96.00 a	1.33 a	2.66 ab

1= 5000-0 ppm, 2= 4000-1000, 3= 3000-2000, 4= 2000-3000, 5= 1000-4000, 6=0-5000, 7= 4000-0, 8= 3000-1000, 9= 2000-2000, 10= 1000-3000, 11= 0-4000, 12= 3000-0, 13= 2000-1000, 14= 1000-2000, 15= 0-3000, 16= Testigo. Significa que se aplico primero timol y carvacrol para formar la mezcla y todos se aplico en ppm. Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente (LSD = 0.05).

Vigor

En el Cuadro 4.7 se muestra los resultados del análisis de varianza para cada una de las variables de vigor del primer muestreo, para los tratamientos, timol, carvacrol y en la interacción de timol y carvacrol, en donde se presentan diferencias altamente significativas para longitud media de plúmula y longitud media de radícula, sin embargo para el caso del peso seco no presenta significancia.

Cuadro 4.7. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de vigor en el primer muestreo.

Fuentes de variación	GL	LMP (cm)	LMR (cm)	PS (mg/plántula⁻¹)
Tratamientos	15	1.86 ^{**}	0.92 ^{**}	64.08 ^{ns}
Timol	5	0.99 ^{**}	0.55 ^{**}	57.29 ^{ns}
Carvacrol	5	2.65 ^{**}	1.19 ^{**}	88.06 ^{ns}
Timol*Carvacrol	5	1.95 ^{**}	1.02 ^{**}	46.88 ^{ns}
Error	17	0	0	84.3
% C.V		0	0	12.61

GL = Grados de Libertada; C.V= Coeficiente de Variación; ** = Significativo (P≤0.01); * = Significativo (P≤0.05); NS = No significativo. LSD=0.05, LMP cm = Longitud Media de Plúmula, LMR cm = Longitud Media de Radícula y PS mg/plántula⁻¹= Peso Seco.

En el Cuadro 4.8 se muestra los resultados de la longitud media de plúmula, estadísticamente todos los tratamientos son diferentes, teniendo al testigo con mayor valor alcanzando el 12.48 cm, caso contrario para el tratamiento 2 que tiene el número más bajo teniendo solo 9.59 cm, mostrando una diferencia de 2.89 cm de plúmula. Para la longitud media de radícula, en términos estadísticos la mayoría de los tratamientos son diferentes excepto el tratamiento 3 y 4 que son iguales aunque numéricamente son diferentes, de igual manera el testigo muestra el mayor numero con 12.43 cm que fue superior a los tratamientos, así también la más baja es el tratamiento 2 con 10.44 cm de longitud media de radícula.

Y para el variable del peso seco en términos estadísticos muestra que existe un solo grupo es decir todos los tratamientos son iguales, pero logarítmicamente si existen diferencias y con mayor resultado es el del tratamiento 4 alcanzando el 81.17 mg/plántula⁻¹ así el tratamiento que tiene más bajo en peso seco es el 8 teniendo el 64.73 mg/plántula⁻¹.

Cuadro 4.8. Comparación de medias para vigor con la aplicación de los 15 tratamientos evaluados y un testigo en cada una de las variables del primer muestreo.

Tratamientos	Longitud media de plúmula (cm)	Longitud media de radícula (cm)	Peso seco (mg/plántula ⁻¹)
1	10.72 h	10.97 l	77.33 a
2	9.59 p	10.44 n	71.31 a
3	11.83 b	11.67 f	76.53 a
4	10.05 n	11.33 f	81.17 a
5	10.37 j	11.01 k	73.80 a
6	11.51 d	12.08 c	67.27 a
7	10.92 g	11.95 d	68.74 a
8	10.23 k	11.61 h	64.73 a
9	10.21 l	11.67 f	78.54 a
10	10.59 i	11.49 i	73.72 a
11	9.95 o	10.88 m	72.50 a
12	11.60 c	12.25 b	68.15 a
13	11.28 e	11.87 e	68.51 a
14	10.93 f	11.64 g	71.80 a
15	10.17 m	10.88 e	72.64 a
16 (Testigo)	12.48 a	12.43 a	77.85 a

1= 5000-0 ppm, 2= 4000-1000, 3= 3000-2000, 4= 2000-3000, 5= 1000-4000, 6=0-5000, 7= 4000-0, 8= 3000-1000, 9= 2000-2000, 10= 1000-3000, 11= 0-4000, 12= 3000-0, 13= 2000-1000, 14= 1000-2000, 15= 0-3000, 16= Testigo. Significa que se aplico primero timol y carvacrol para formar la mezcla y todos se aplico en ppm. Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente (LSD = 0.05).

En la Figura 4.4 se muestran claramente los resultados obtenidos de la germinación normal o estándar de cada uno de los tratamientos utilizados, de los 15 tratamientos se puede observar que ninguno afecta la germinación, el tratamiento 6 es la que presenta un valor alto en porcentaje, sin embargo el tratamiento 11 es la que alcanza el valor más bajo en

porcentaje de germinación y para los tratamientos 3, 10, 12 y 13 igualaron en porcentaje de germinación al testigo. Salvadores *et al.*, (2007), realizaron un trabajo de investigación donde utilizan polvo de orégano para el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* motschulsky, en trigo almacenado, obtienen resultados similares con 93.3 % de germinación y concluye que no afecta significativamente el poder germinativo de las semillas.

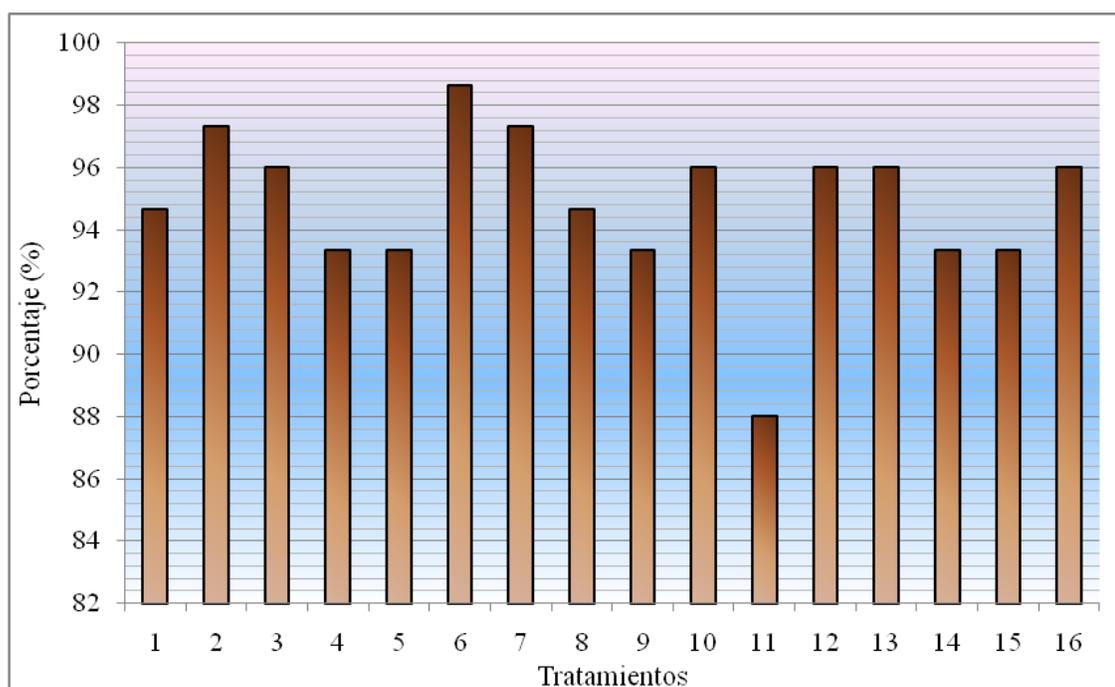


Figura 4.4. Germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.

En la Figura 4.5 para las plántulas anormales se distingue claramente el tratamiento 4 es la que sobresale en porcentajes de plántulas anormales comparando con los demás tratamientos, seguido por el tratamiento 5 con 5.55 % así mismo se igualan los tratamientos 9, 11, 14 y 15 teniendo el 4 %, para los tratamientos 1, 10, 12 y 13 obtienen 2.66 % de

plántulas anormales, sin embargo el testigo se iguala con los tratamientos 3, 6, 7 y 8 y por último el tratamiento 2 es la que no presenta efecto sobre la semilla de maíz obteniendo el 0 % de plántulas anormales.

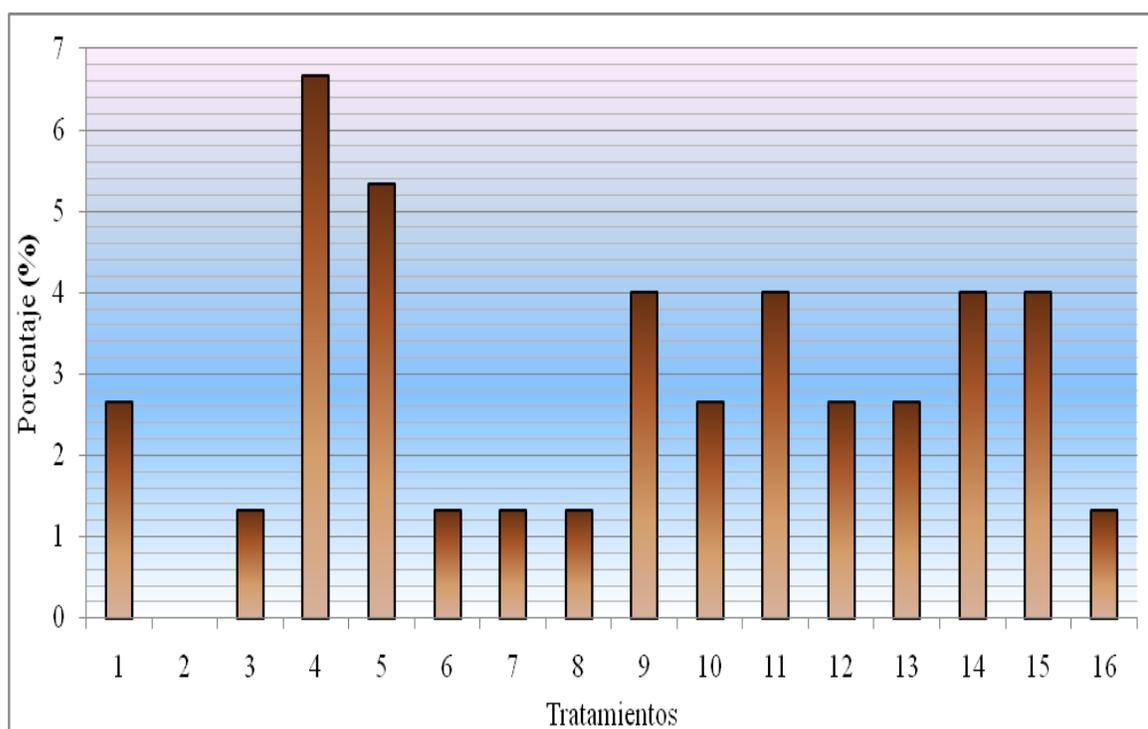


Figura 4.5. Plántulas anormales en la germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.

En la Figura 4.6 para las semillas sin germinar, el tratamiento 11 es la que obtiene más porcentaje de semillas sin germinar, seguido por el tratamiento 8, por lo tanto la mayoría igualaron al testigo, sin embargo los tratamientos 4 y 6 tienen 0 % de semillas sin germinar. Caughey *et al.*, (2008), en la realización de una investigación mencionan que no hubo diferencias significativas en las semillas de frijol impregnadas con aceite esencial de orégano silvestre presentando del 74 al 75 % de germinación y tampoco presento diferencias significativas entre las plántulas normales, anormales y semillas no germinadas.

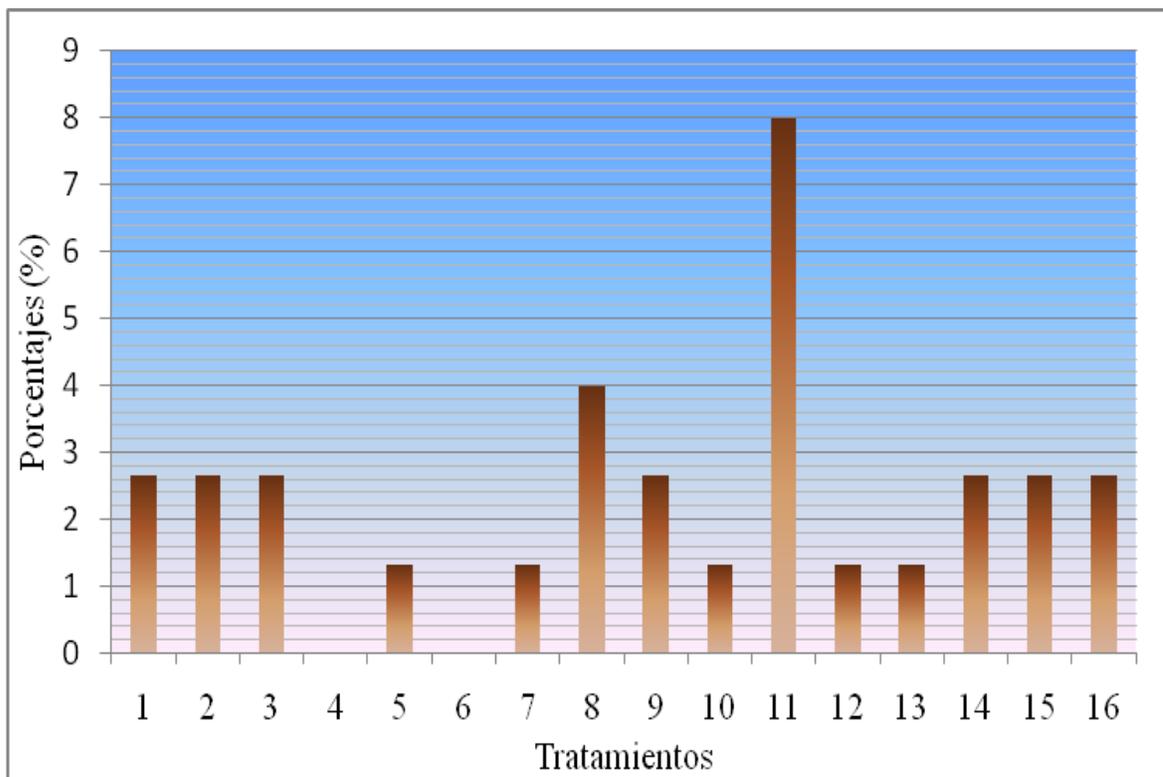


Figura 4.6. Semillas sin germinar en la germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.

En la Figura 4.7 se tiene los resultados de longitud media de plúmula y de radícula, en donde se puede notar claramente que todos los tratamientos obtuvieron mejores resultados menos el tratamiento 2 que solo alcanza 9.59 cm, en la longitud media de plúmula y 10.44 cm para longitud media de radícula. También se puede observar los valores de la longitud media de radícula son mayores que el de longitud media de plúmula menos el tratamiento tres y el testigo.

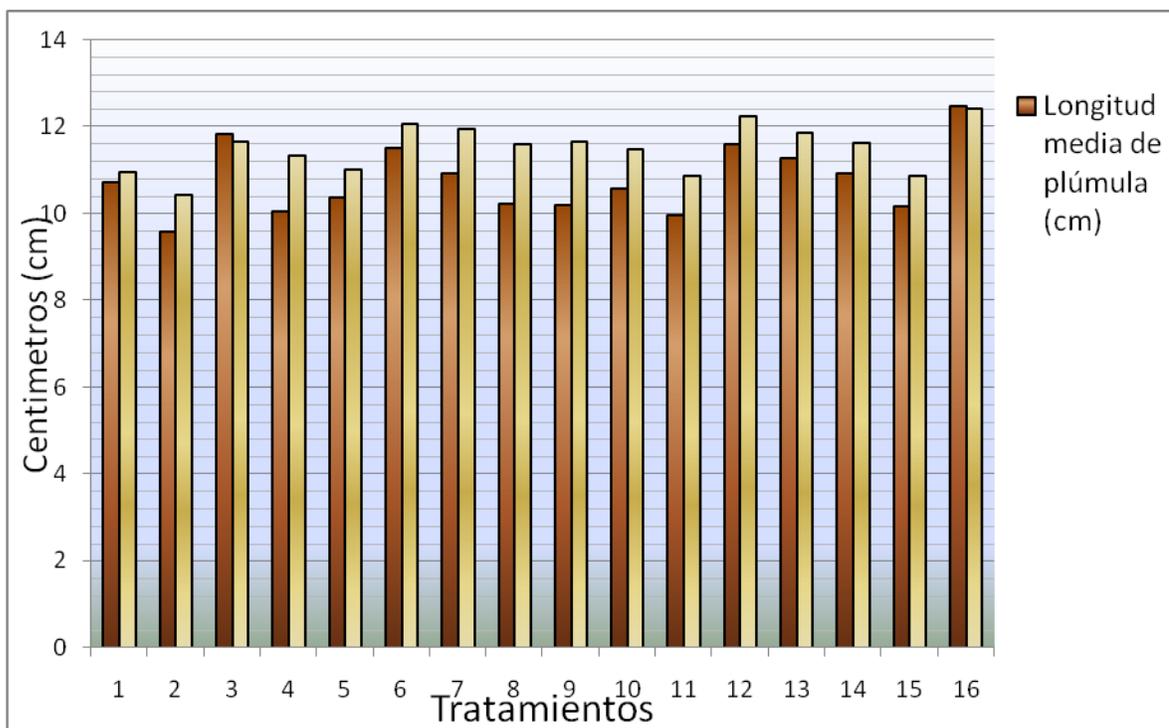


Figura 4.7. Longitud media de plúmula y longitud media de radícula de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.

En la Figura 4.8 se muestra el peso seco de plántulas de maíz (vigor) en almacenamiento tratado con 15 tratamientos y un testigo, se puede observar que 4 tratamientos sobresalen en los resultados del peso seco como son el 1, 4, 9 y 16 (testigo), pero el tratamiento 4 logra un mayor número con $81.17 \text{ mg/plántula}^{-1}$, sin embargo, el tratamiento 8 se muestra que es el más bajo en peso seco logrando solo el $64.63 \text{ mg/plántula}^{-1}$. La mayoría de los tratamientos muestran resultados similares.

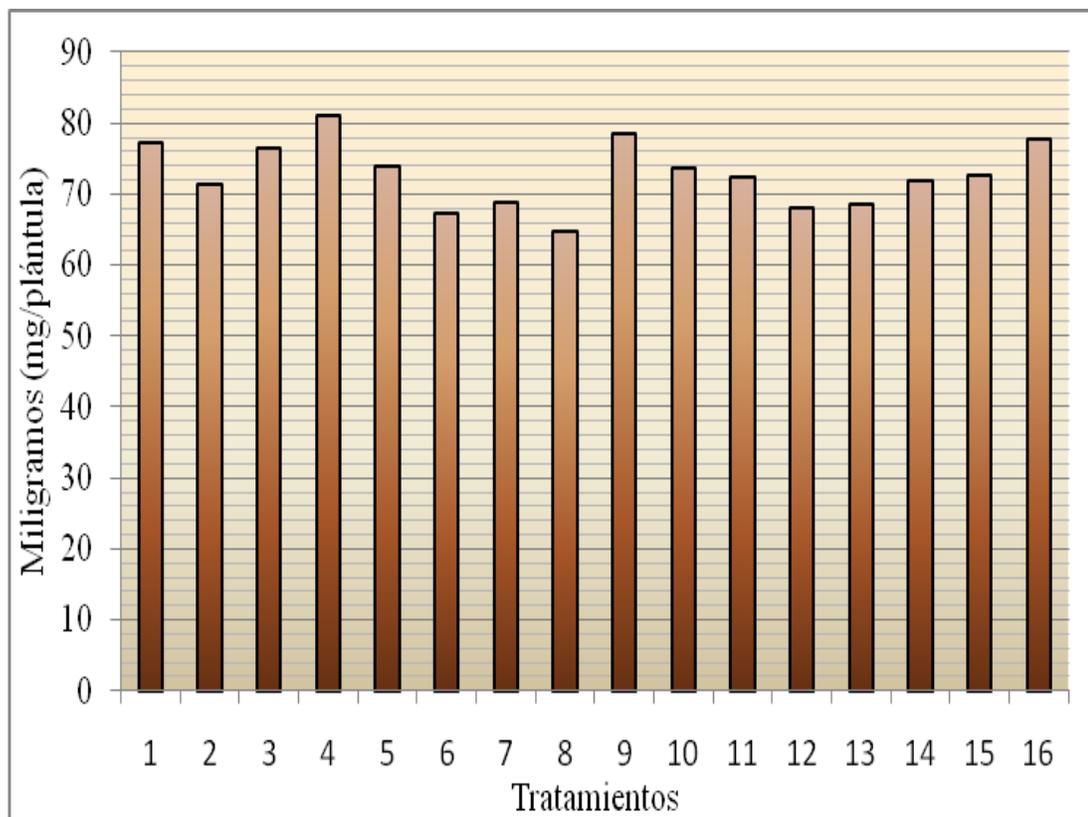


Figura 4.8. Peso seco de semillas de maíz tratadas con 15 tratamientos y un testigo en el primer muestreo.

Segundo muestreo

Para los cuadrados medios del análisis de varianza para los tratamientos, timol, carvacrol y la interacción de los aceites de timol y carvacrol en el segundo muestreo, en el caso de plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar muestra que ninguna de las fuentes de variación tiene diferencias significativas como se muestra en el siguiente Cuadro 4.9.

Cuadro 4.9. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de capacidad de germinación estándar en el segundo muestreo.

F.V	GL	PN %	PA %	SSG %
Tratamientos	15	8.86 ^{ns}	7.08 ^{ns}	3.46 ^{ns}
Timol	5	5.17 ^{ns}	5.00 ^{ns}	2.40 ^{ns}
Carvacrol	5	11.84 ^{ns}	7.66 ^{ns}	4.08 ^{ns}
Timol*Carvacrol	5	9.57 ^{ns}	8.66 ^{ns}	3.91 ^{ns}
Error	17	15.39	8.17	6.98
C.V		4.08	137.25	144.11

GL = Grados de Libertada; C.V= Coeficiente de Variación;** = Significativo ($P \leq 0.01$); * = Significativo ($P \leq 0.05$); NS = No significativo. GER % = Germinación, PA % = Plántulas Anormales, SSG % = Semillas sin germinar. LSD = 0.05.

En el Cuadro 4.10 se presentan los resultados de la comparación de medias de los tratamientos evaluados durante el segundo muestreo, la variable de germinación en términos estadísticos forman un solo grupo A es decir todos los tratamientos son iguales. Dentro del grupo A numéricamente se tiene el tratamiento 13 quien obtuvo el mejor resultado alcanzando el 98.66 %, superando nuevamente al testigo, sin embargo los tratamientos 11 y 14 igualan al testigo con 96.0 %, y para los tratamiento 9, 12 y 15 logran resultados bajos teniendo solo 93.33 % de germinación.

Para el caso de la variable de plántulas anormales estadísticamente forman 2 grupos (A y B) de los tratamientos, el grupo A formado solo por el tratamiento 12 quien fue la que estadísticamente y numéricamente presenta el valor más alto alcanzando 5.33 % de plántulas anormales. Dentro del grupo B integrado por los tratamientos 1, 5, y 13 obtuvieron el 0 % y para los demás tratamientos estadísticamente son iguales que van desde 1.33 hasta 4 % de plántulas anormales. Para la variable de semillas sin germinar estadísticamente forman un solo grupo pero logarítmicamente el tratamiento 9 es el que tiene el valor elevado teniendo 4 %, caso contrario el tratamiento 4 y 7 numéricamente obtuvieron el valor de 0 % de semillas sin germinar.

Cuadro 4.10. Comparación de medias para las variables de germinación en el segundo muestreo.

Tratamientos	Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	Semillas sin germinar (%)
1	97.33 a	0.00 b	2.66 a
2	97.33 a	1.33 ab	1.33 a
3	94.66 a	2.66 ab	2.66 a
4	97.33 a	2.66 ab	0.00 a
5	97.33 a	0.00 b	2.66 a
6	97.33 a	1.33 ab	1.33 a
7	97.33 a	2.66 ab	0.00 a
8	97.33 a	1.33 ab	1.33 a
9	93.33 a	2.66 ab	4.00 a
10	94.66 a	4.00 ab	1.33 a
11	96.00 a	2.66 ab	1.33 a
12	93.33 ^a	5.33 a	1.33 a
13	98.66 a	0.00 b	1.33 a
14	96.00 a	1.33 ab	2.66 a
15	93.33 a	4.00 ab	2.66 a
16(Testigo)	96.00 a	1.33 ab	2.66 a

1= 5000-0 ppm, 2= 4000-1000, 3= 3000-2000, 4= 2000-3000, 5= 1000-4000, 6=0-5000, 7= 4000-0, 8= 3000-1000, 9= 2000-2000, 10= 1000-3000, 11= 0-4000, 12= 3000-0, 13= 2000-1000, 14= 1000-2000, 15= 0-3000, 16= Testigo. Significa que se aplico primero timol y carvacrol para formar la mezcla y todos se aplico en ppm. Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente (LSD = 0.05).

Vigor

En el Cuadro 4.11 se presentan los resultados del análisis en los tratamientos, timol, carvacrol y de la interacción de timol y carvacrol, en cuanto a la longitud media de plúmula y de longitud media de radícula no presentan diferencias significativas en ninguno de las fuentes de variación. Para el peso seco muestra que solo hubo diferencias significativas en los tratamientos, en la interacción del timol y carvacrol.

Cuadro 4.11. Cuadrados medios del análisis de varianza para la variable de vigor en el segundo muestreo.

F.V	GL	LMP (cm)	LMR (cm)	PS (mg plántula⁻¹)
Tratamientos	15	0.2 ^{ns}	0.24 ^{ns}	58.34 [*]
Timol	5	0.16 ^{ns}	0.22 ^{ns}	49.10 ^{ns}
Carvacrol	5	0.15 ^{ns}	0.40 ^{ns}	45.70 ^{ns}
Timol*Carvacrol	5	0.29 ^{ns}	0.11 ^{ns}	80.22 [*]
GL		15	15	15
Error	17	0.18	0.73	24.01
C.V		3.52	7	6.59

GL = Grados de Libertada; C.V= Coeficiente de Variación; ** = Significativo ($P \leq 0.01$); * = Significativo ($P \leq 0.05$); NS = No significativo, LMP cm = Longitud Media de Plúmula, LMR cm = Longitud Media de Radícula, PS mg plántula⁻¹ = Peso Seco. LSD = 0.05.

En la comparación de medias de vigor, en las variables de longitud media de plúmula (LMP) y longitud media de radícula (LMR), los tratamientos no afectan a las variables correspondientes así como se desglosa a continuación (Cuadro 4.12). En el caso LMP estadísticamente forman diferentes grupos, el tratamiento 13 es el único que obtuvo el mayor longitud media de plúmula con 12.58 cm, superando al testigo que solo alcanzó el 12.48 cm, existen tratamientos que estadísticamente son iguales en el cual se encuentran los tratamientos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11 y 14 que van desde 11.24 hasta 12.36cm, así mismo para los tratamientos 12 y 15 estadísticamente son iguales aun que numéricamente son diferentes teniendo 11.78 y 11.74cm, para el caso del tratamiento 7 es el que alcanzo el menor número teniendo el valor de 11.37 cm. En lo que se refiere a la variable de longitud media de radícula los tratamientos en términos estadísticos todos son iguales formando un solo grupo, aunque en términos aritméticos son diferentes para el caso del tratamiento 1 que alcanzan el valor más alto con 12.57 cm, y para el tratamiento 13 es el valor que tiene resultado bajo que solo obtuvo 11.77 cm de longitud media de radícula.

Para la variable del peso seco que se muestra estadísticamente que todos los tratamientos son diferentes sobresaliendo el tratamiento 4 con 81.70 mg/plántula⁻¹,

superando al testigo ya que solo obtuvo el 77.85 mg/plántula⁻¹ y para el tratamiento 5 es el que obtiene el número bajo con 66.70 mg/plántula⁻¹ de peso seco de plántulas de maíz.

Cuadro 4.12. Comparación de medias para el vigor en el segundo muestreo.

Tratamientos	Longitud media de plúmula (cm)	Longitud media de radícula (cm)	Peso seco (mg/plántula ⁻¹)
1	11.96 abc	12.57 a	69.56 cde
2	12.36 abc	12.36 a	69.0 de
3	12.09 abc	11.77 a	73.26 bcde
4	12.20 abc	11.84 a	81.70 a
5	12.46 abc	12.62 a	66.70 e
6	12.06abc	12.46 a	75.29 abcd
7	11.37 c	12.38 a	78.98 ab
8	11.89 abc	12.25 a	71.03 bcde
9	12.05 abc	12.21 a	78.08 ab
10	12.04 abc	11.82 a	71.72 bcde
11	12.14 abc	12.18 a	78.73 ab
12	11.78 bc	11.86 a	73.91 abcde
13	12.58 a	12.56 a	71.45 bcde
14	11.24 abc	12.20 a	78.69 ab
15	11.74 bc	11.97a	72.13 bcde
16 (testigo)	12.48 ab	12.42 a	77.85 abc

1= 5000-0 ppm, 2= 4000-1000, 3= 3000-2000, 4= 2000-3000, 5= 1000-4000, 6=0-5000, 7= 4000-0, 8= 3000-1000, 9= 2000-2000, 10= 1000-3000, 11= 0-4000, 12= 3000-0, 13= 2000-1000, 14= 1000-2000, 15= 0-3000, 16= Testigo. Significa que se aplico primero timol y carvacrol para formar la mezcla y todos se aplico en ppm. Valores con la misma letra dentro de cada columna son iguales estadísticamente (LSD = 0.05).

En la figura 4.9 se pueden apreciar claramente los resultados de la germinación estándar del segundo muestreo, la mayoría de los tratamientos tienen porcentajes altos comparando con el del primer muestreo y por ende el tratamiento 13 se obtiene el mayor porcentaje de germinación, seguido por los tratamientos 1, 2, 4, 5, 6, 7 y 8, así mismo para los tratamientos 9, 12 y 15 que obtiene valores bajos y para los tratamientos 11 y 14 igualan al testigo.

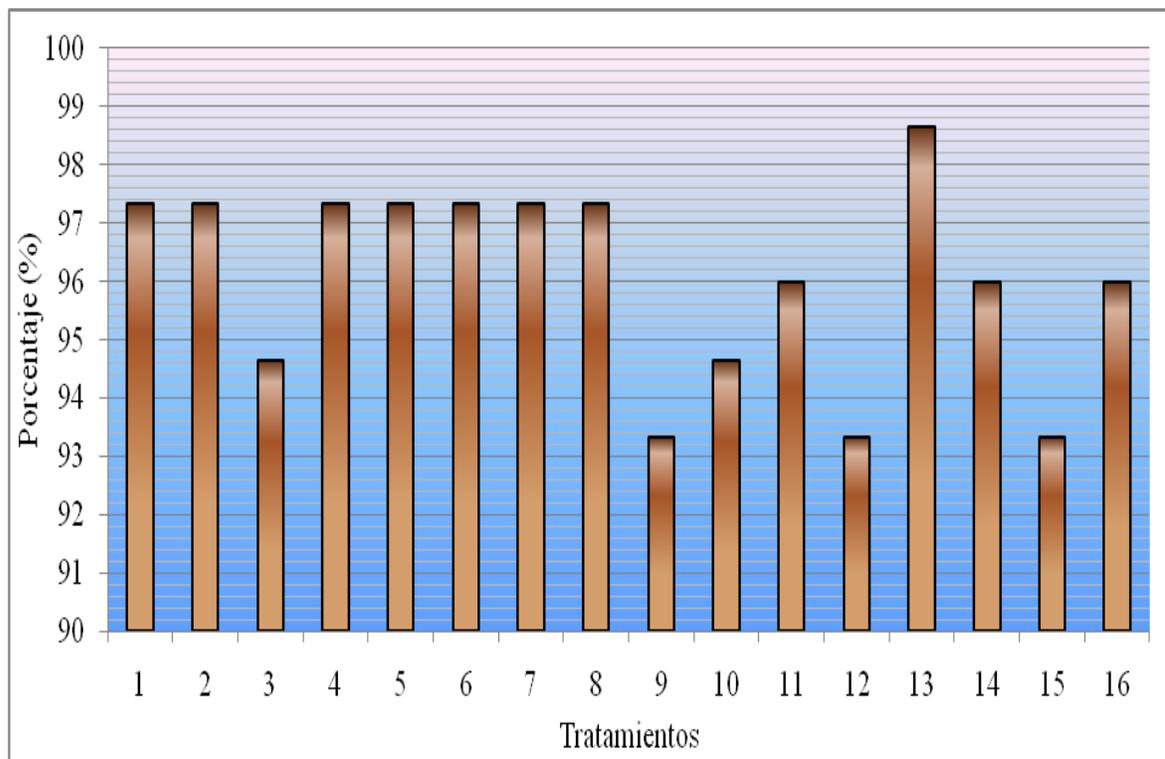


Figura 4.9. Germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el segundo muestreo.

En la Figura 4.10 para el caso de las plántulas anormales fue el tratamiento 12 que mostró un alto resultado sobre plántulas anormales, seguido por los tratamientos 10 y el 15, para los tratamientos 1, 5, y 13 muestran que no tuvieron números de plántulas anormales lo cual quiere decir que no tuvieron efecto en las semillas tratadas. Y en cuanto al testigo igualó con los tratamientos 2, 6, 8 y 14 alcanzando los mismos porcentajes de plántulas anormales.

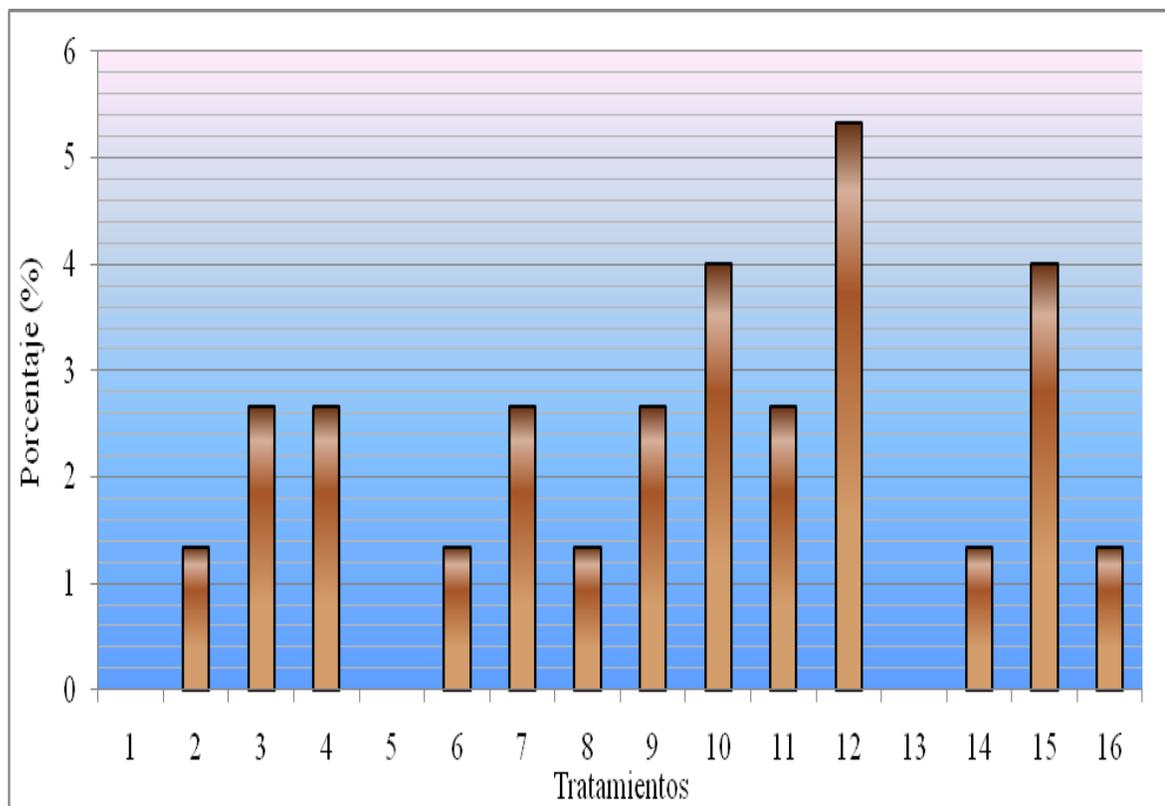


Figura 4.10. Plántulas anormales de la semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el segundo muestreo.

En la Figura 4.11 se muestran los resultados de las semillas sin germinar, estadísticamente todos los tratamientos son iguales formando así un solo grupo, aunque numéricamente el tratamiento 9 presenta el mayor valor, y con los tratamientos 4 y 7 cabe mencionar que obtuvieron el 0 %, sin embargo existen tratamientos que se igualaron tales como son el 1, 3, 5, 14, 15 y 16 con 2.66 %, así mismo para los tratamientos 2, 6, 8, 10, 11, 12 y 13 adquiriendo el 1.33% de semilla sin germinar.

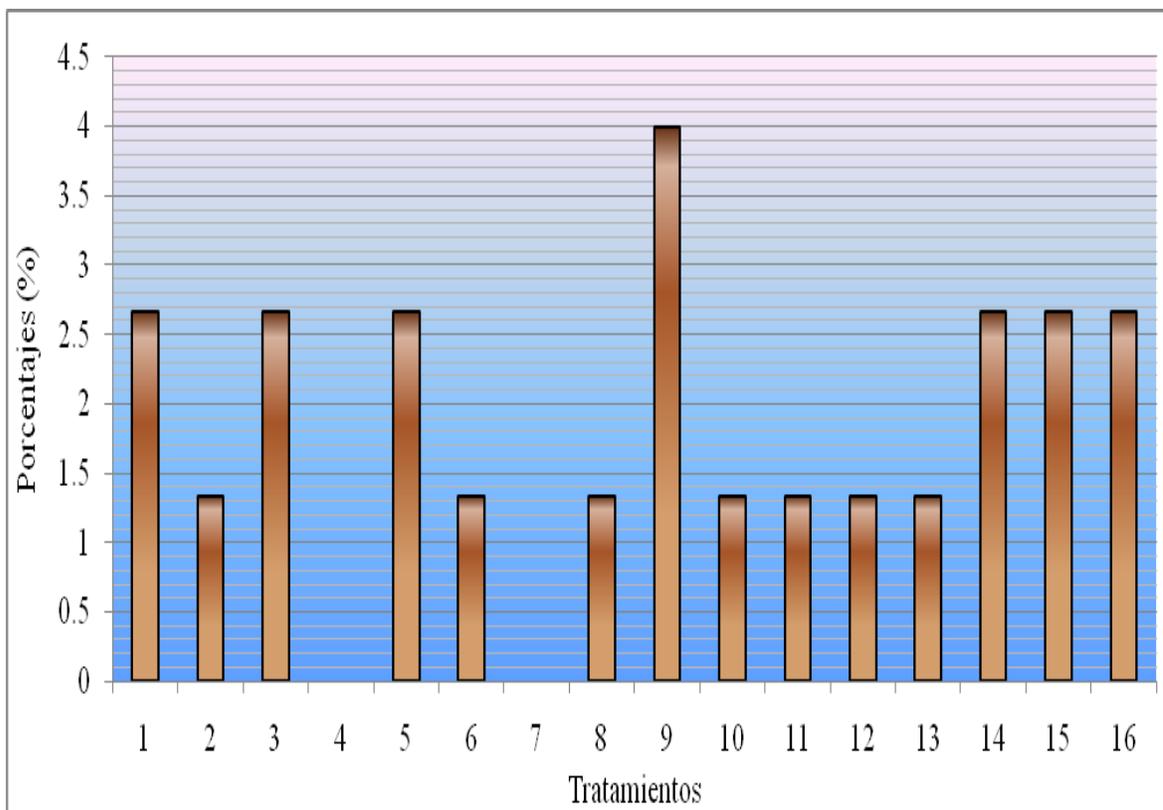


Figura 4.11. Semillas sin germinar en la germinación estándar de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo en el segundo muestreo.

En la Figura 4.12 se pueden observar los resultados realizados de las pruebas de vigor, en cuanto a la longitud media de plúmula, el tratamiento 13 estadísticamente es el que presenta el mejor resultado y el tratamiento 7 fue el que obtuvo el número más bajo con 11.37 %, para el caso de longitud media de radícula estadísticamente se forma el único grupo A y dentro de este grupo se observa que el comportamiento del tratamiento 5 fue el mayor valor alcanzando el 12.53 cm, y para el tratamiento 3 logra el valor más bajo con 11.8 cm de longitud de radícula.

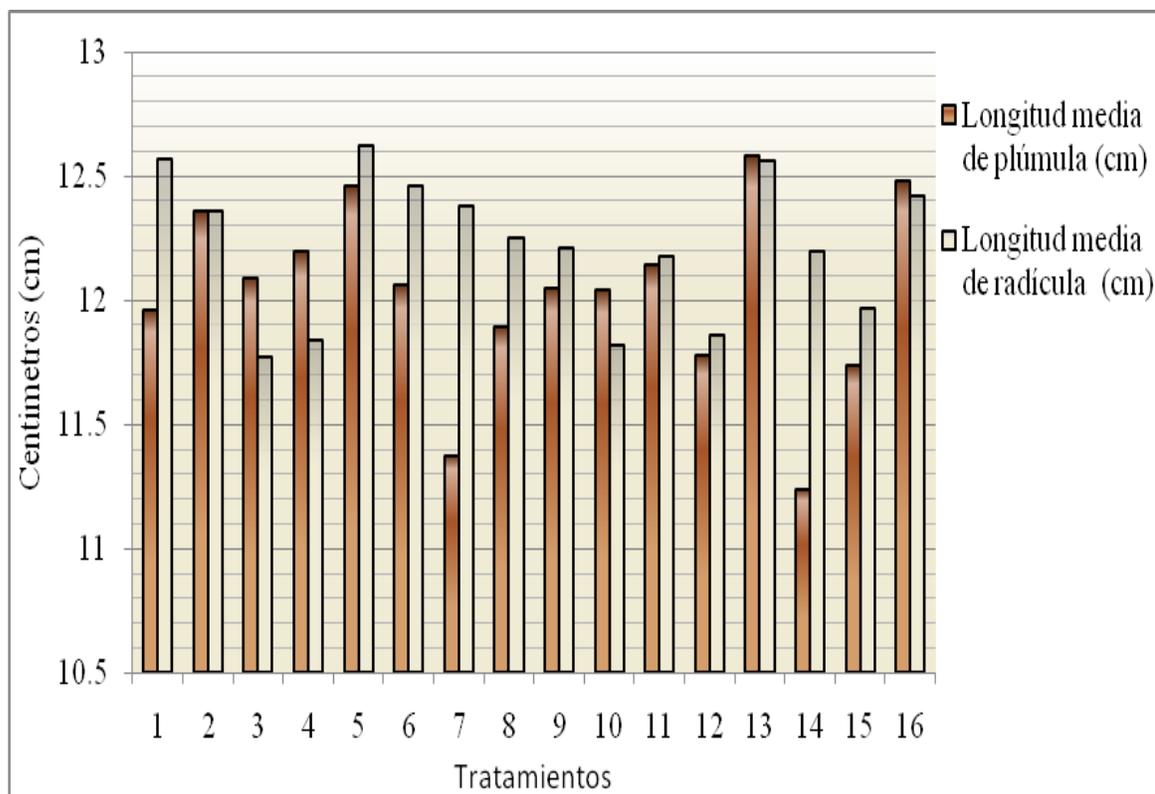


Figura 4.12. Longitud media de plúmula y longitud media de radícula de semilla de maíz tratada con 15 tratamientos y un testigo utilizado en el segundo muestreo.

Para el caso de la variable del peso seco de las plántulas de maíz almacenada, con la aplicación de los 15 tratamientos la mayoría obtuvieron resultados altos, es decir que no afecto considerablemente en el peso seco así como se puede ver en la Figura 4.13 se puede apreciar que el tratamiento 4 es el que obtiene el mayor resultado alcanzando el valor más alto con $81.70 \text{ mg/plántula}^{-1}$, superando al testigo ya que solo alcanzó $77.85 \text{ mg/plántula}^{-1}$, para el caso del tratamiento 5 es el que muestra el valor bajo con $66.7 \text{ mg/plántula}^{-1}$. Aunque la mayoría de los tratamientos muestran resultados diferentes que van desde $71.03 \text{ mg/plántula}^{-1}$, hasta $78.98 \text{ mg/plántula}^{-1}$. Como se observa de que existen buenos resultados en casi todos los tratamientos.

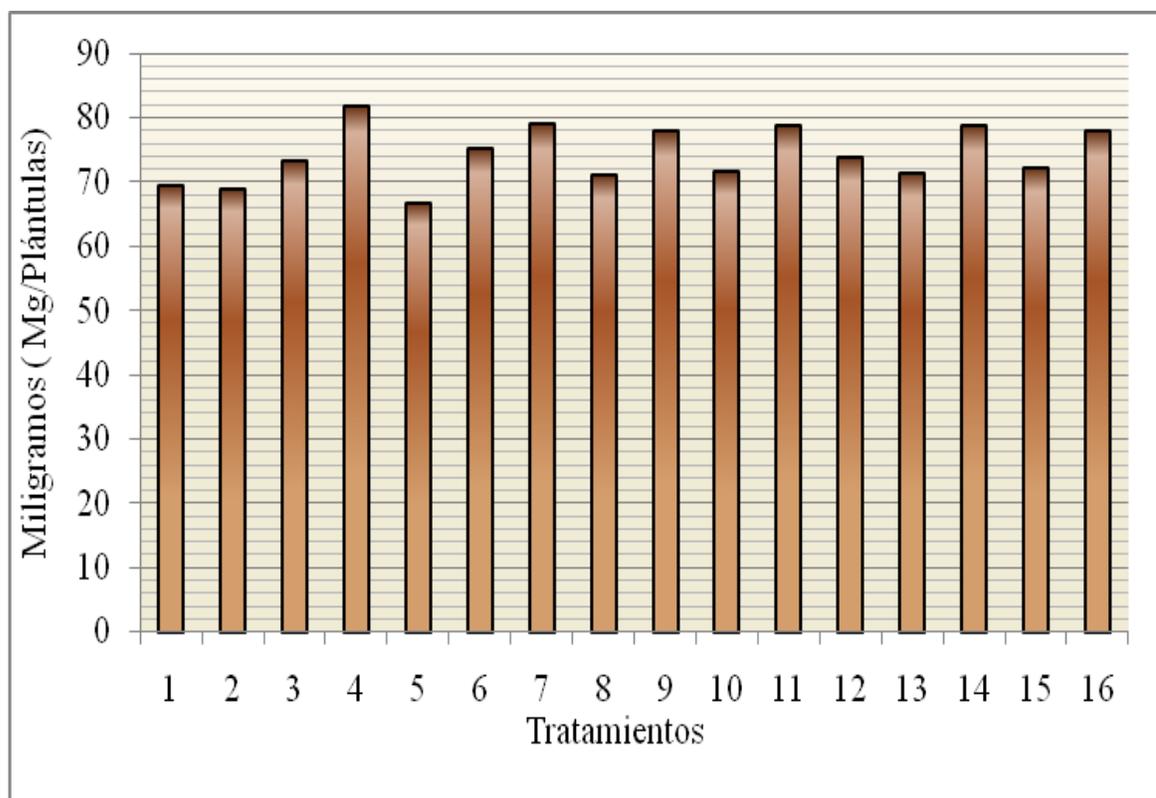


Figura 4.13. Peso Seco de Semilla de Maíz Tratada con 15 tratamientos del segundo muestreo.

V. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos de las variables de mortalidad, residuabilidad, repelencia, y calidad fisiológica de la semilla, evaluadas en esta investigación se ha llegado a las siguientes conclusiones: Para el caso de la mortalidad de los insectos adultos de *Sitophilus zeamais*, el tratamiento 10 en la mezcla a 1000 ppm de timol y 3000 ppm de carvacrol, obtuvo altos porcentajes de mortalidad en el primer muestreo (24, 48 hrs.) siendo así la dosis óptima, ya para el segundo muestro (72 hrs.) la mayoría de los tratamientos ya no tuvieron efecto de mortalidad comprobando que la residuabilidad del producto es de tiempo corto y también hubo tratamientos que no obtuvieron porcentajes de mortalidad en ninguno de los dos muestreos.

Y para el caso de la repelencia el aceite esencial de orégano en su metabolito secundario carvacrol, a 1000 ppm quien tuvo el porcentaje muy alto de insectos repelidos comparando con el testigo, mostrando que es una buena alternativa para el control de insectos en almacén debido a que evitan que el insecto dañe el grano y la semilla de maíz.

En la calidad fisiológica de semillas tratada, la aplicación de las mezclas la mayoría presentaron porcentajes altos de germinación, inclusive algunos tratamientos superaron al testigo y de hecho un tratamiento rebaso con el 2.66% de germinación, por lo que en este factor no existe daño a la calidad fisiológica a las semillas, por efecto de los aceite. En lo que se refiere al vigor de las semillas en la longitud media de plúmula y radícula todos los aceites presentaron los resultados por debajo del testigo en un promedio de 2.89 cm, por lo que hay un ligero efecto en el vigor. Y por último el peso seco de las plántulas de maíz almacenado se tiene similar comportamiento que el anterior debido a que la mayoría de los

tratamientos nuevamente se encontraron por debajo del testigo y solo un tratamiento supera hasta $3.32 \text{ mg plántula}^{-1}$ en ambos muestreos.

RESUMEN

El trabajo de investigación se llevó a cabo dentro de las instalaciones del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS), ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. Estableciendo el siguiente objetivo, encontrar la dosis óptima de las mezclas de timol y carvacrol, extraídas del orégano y aplicadas para el control de mortalidad de *Sitophilus zeamais*, su residuabilidad y repelencia, sin que afecte la calidad fisiológica de semilla de maíz almacenado. En el presente trabajo de la investigación se evaluó el efecto de las mezclas óptimas para el control de plagas utilizando aceites de orégano timol y carvacrol procedente de Salaices, Chihuahua. Para el control del *Sitophilus zeamais* en semillas de maíz criollo producido en P - O de 2010. Así mismo los insectos fueron obtenidos en el Departamento de Parasitología para el incremento de los mismos. El estudio se estableció en tres etapas, una en el incremento de insectos *Sitophilus zeamais* hasta llegar a etapa adulto. En la segunda etapa, se planteo un bioensayo para determinar los resultados sobresalientes, evaluando la mortandad de los insectos *Sitophilus zeamais* aplicando ocho dosis diferentes de mezclas de aceites de timol y carvacrol de orégano incluyendo un testigo en tiempos de 24, 48 y 72 horas. La tercera etapa se incrementó el número de tratamientos, estableciendo dieciséis en total incluyendo un testigo con agua, por lo que las mezclas utilizadas en esta tercera etapa fueron las siguientes: para cada tratamiento se aplico primero el timol y luego el carvacrol para formar la mezcla, 1= 5000-0 ppm, 2= 4000-1000, 3= 3000-2000, 4= 2000-3000, 5= 1000-4000, 6=0-5000, 7= 4000-0, 8= 3000-1000, 9= 2000-2000, 10= 1000-3000, 11= 0-4000, 12= 3000-0, 13= 2000-1000, 14= 1000-2000, 15= 0-3000, 16= testigo, así mismo aumentando las concentraciones hasta 5000 ppm, determinando la mortalidad de los insectos y la calidad fisiológica de la semilla. Además se realizó un estudio sobre el grado de repelencia en el gorgojo de maíz *Sitophilus zeamais* utilizando los aceites de timol y carvacrol de orégano originales. Los parámetros a evaluar fueron la mortalidad de insectos, repelencia y la calidad fisiológica de las semillas. Se realizaron dos muestreos, uno inicial a las 24 horas y otro a los 30 días. Para el caso de la

mortalidad de insectos, la cantidad de maíz utilizada en cada unidad experimental fue de 70 g; colocando cada cantidad y aplicando el tratamiento correspondiente en frascos de 250 g. Una vez tratada la semilla se dejó reposar durante 24 horas y posteriormente se le agregaron diez insectos sin sexar. Evaluando la mortalidad de insectos a las 24, 48 y 72 horas de ser expuestos en los tratamientos en cada muestreo, utilizando una lámpara y una criba para contabilizar el número de insectos muertos y vivos, consecutivamente se evaluó la calidad fisiológica de la semilla mediante las pruebas de capacidad de germinación y vigor. En cuanto a la repelencia en *Sitophilus zeamais*, se evaluaron 5 dosis de los aceites timol y carvacrol de 200, 400, 600, 800, 1000 ppm respectivamente, empleando 3 repeticiones por cada dosis y aceite. Se aplicaron cada dosis en papel filtro Whatman No. 1 colocado dentro de una caja Petri y se dejó reposar durante 24 horas. En una caja de plástico de 21x 19x 7cm se colocaron en cada extremo dos cajas Petri una con la dosis de aceite y en otra sin aceite, a ambas se le agregaron 100g de semillas de maíz criollo y en el centro de la caja de plástico se colocaron 15 insectos y se cerró la caja. Se evaluaron los conteos de repelencia a las 6, 12, 24 y 48 horas. Los datos de mortalidad de insectos y la calidad fisiológica de las semillas se analizaron bajo un diseño de parcelas divididas, donde se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9 (2000) y la comparación de medias de los tratamientos mediante una prueba de LSD a un nivel de significancia de un 5%. Y con la repelencia solo se cuantificó las medias de insectos repelidos.

Podemos concluir que mejores los tratamientos en el caso de la mortalidad de insectos muestran en el primer muestreo el mejor tratamiento es el 10 (Timol 10000 y carvacrol 3000), y para el segundo muestreo la mayoría de los tratamientos ya no tuvieron efecto de mortalidad comprobando que la residuabilidad del producto es de tiempo corto. Y para el caso de la repelencia el aceite esencial de orégano en su metabolito secundario carvacrol, a 1000 ppm tuvo el porcentaje más alto de insectos repelidos comparando con el testigo, mostrando que es una buena alternativa para el control de insectos en almacén. En la calidad fisiológica de las semillas, los porcentajes de la germinación estándar fueron muy altos por lo que no tuvo daño por efecto de los tratamientos, sin embargo en el caso del

vigor se muestra que hubo un ligero efectos de los tratamientos aplicados en las semillas almacenada.

LITERATURA CITADA

- Aligiannis N., Kalpoutzakis E., Mitaku S., Chinou IB., 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. J. Agric. Food Chem. 49: 4168-4170.
- AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32 to handbook on seed testing. Association of Official Seed Analysts. 93 p.
- Ahmed, S.M., and A. Ahamad., 1992. Efficacy of some indigenous plants as pulse protectants against *Callosobruchus chinensis* L. infestation. Int. Pest Control 34:54-56.
- Appert, J., 1987. The storage of food grains and seeds. MacMillan. London, England. 146 p.
- Arango, M.R., Salinas, A.R., Craviotto, R.M., Yoldjian, A.M., 2001. Estimación de la germinación en soja a través de la conductividad eléctrica. ACTAS XII Congreso Brasileiro de Semillas Curitiba- Brasil.
- 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, Salta, Chihuahua.
- Arcila, L., Loarca, P. C. C., Lecona, U. G. 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.
- Arenas, L. C; Salinas, M. Y; Ballesteros, L. J; López, H. A. 1994. Alternativas al uso de insecticidas. In: Perales, M; Fregoso, L. eds. Desarrollo sostenible de los agroecosistemas en el sur de Sinaloa. Ed. Multigraf S.A. de C.V., México. p. 217-226.
- Arnason, J. T.; Baum, B.; Gale, J.; Lambert, J. D. H.; Bergvinson, D.; Philogène, B. J. R.; Serratos, J. A.; Mihm, J. and Jewell, D. C. 1994. Variation in resistance of

- Mexican landraces of maize to maize weevil *Sitophilus zeamais*, in relation to taxonomic and biochemical parameters. *Euphytica* 74:227–236.
- Arnason, J. T.; Conilh de Beyssac, B.; Philogène, B. J. R.; Bergvinson, D; Serratos, J. A. and Mihm, J., 1997. Mechanism of resistance in maize grain to the maize weevil and the larger grain borer. p. 91–95. *In*: Mihm, J. A. (ed.). Insect resistance maize. Recent advances and utilization. Proceeding of an international symposium held at CIMMYT. Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo. México D. F.
- Bergvinson, D. J. and García, L. S. 2003. Advances in tropical maize resistance to storage pests. *In*: CIMMYT (ed.). International Symposium on Plant Breeding. México, D. F. p. 2–3.
- Bergvinson, D. J.; García, L. S.; Ramputh, A., Burt, A. and Arnason, J. T. 2001. Biochemical and genetic basis for storage pest resistance in maize. *In*: Vazquez B., M. E., Facio P. F., Valdez O. A. y Daniel G. J. A (eds.). XI Curso internacional de actualización en tecnología de semillas. poscosecha de granos y semillas. Saltillo, Coahuila, México. p. 58–66.
- Berlanga, R. C. A, E. E. Villavicencio G., O. U. Martínez B. y A. Cano P. 2005 Vegetación asociada al orégano *Lippiagraveolens* (HBK) y sus características dasonómicas en algunas comunidades de Coahuila Memorias 2ª REUNION NACIONAL SOBRE OREGANO.
- Bartlett M., S. 1947. The use of transformations, biometrics. pp. 39 - 52.
- 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.
- CASAFE. 2005. Guía de Productos Fitosanitarios para la Republica de Argentina. II. Tomo II. Ed. CASAFE. Bs.As. Argentina. 2080 pp.
- Casini, C. 2007. Conservación de granos. En línea. <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/folletos/conservacionDeGranos.pdf>. Fecha de consulta el 27 de Agosto de 2011.

- Caughey E., Ortega-N., Corella B., Robles B. y Wong C..2008. Germinación y Aceptabilidad de los Frijoles Impregnados con el Aceite Esencial de Orégano (*lippiapalmeris. wats*). En línea. Citado 15-03-2012. Disponible en: <http://www.dictus.uson.mx/florazonasaridas/CD%20in%20Extensos/Quimica%20Bioquimica/Mc%20Caughey-Espinoza%20Diana%20M.pdf>
- Cerovich, M. y Miranda, F. 2004. Almacenamiento de semillas: estrategia básica para la seguridad alimentaria. Universidad Central de Venezuela. Facultad de Agronomía.
- CONAFOR, Comision Nacional Forestal., 2005. Orégano mexicano, oro verde del desierto. En línea. http://www.mexicoforestal.gob.mx/nuestros_arboles.php?id=29. Fecha de consulta 08 de febrero de 2012.
- FAO. 1993. Manual de manejo poscosecha de granos a nivel rural. Roma. Italia.
- García C., Bautista N., Gonzales M. B., 2009. Principales plagas de granos almacenados. 85 p.
- García, L. C. Espinosa, C. y D. J. Bergvinson. 2007. Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. México, D.F.: CIMMYT.
- García, L. S.; Bergvinson, D. J.; Burt, A. J.; Ramputh, A. I.; DíazP. D. M. and Arnason, J. T. 2004. The role of pericarp cell wall components in maize weevil resistance. *Crop Sci.* 44:1546–1552.
- 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. FoodChem.*; 46, 4185-4192.
- Hampton, J. G. 2001. Revista Internacional de semillas. En la página: http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed55/artigocapa55_esp.shtml. Fecha de consulta: 05 de Septiembre de 2011.

- Harada, J. J. 1997. Seedmaturation and control of germination. In: Cellular and molecular biology of plant seed development. (B. A. Larkins& I. K. Vasil, Eds.).Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Hernández, J. A. 1999. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Medios impresos, sagar-colegio de postgraduados.
- Huerta, C. 1997. Orégano mexicano: Oro vegetal. Biodiversitas. Bol. CONABIO 3:8-13 p.
- INCAP. 1991. Aprovechamiento de los recursos localmente disponibles: cereales y sus productos. Guatemala. Cadena, 6:14 p.
- Isman, M. 2000. Plant essential oils for pest and disease management.Crop Protection. 19: 603-608 p.
- ISTA. 1999. International rules for seed testing. Seed Science and Technology. 27. Supplement.
- Justesen, U., Knuthsen, P. 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes.FoodChemistry. 73, 245-250.
- Iannacone J., Ayala H., Román A., 2005. Efectos toxicologicos de cuatro plantas sobre el gorgojo del maiz*sitophiluszeamaismotschulsky*1855 (coleoptera: curculionidae) y sobre el gorgojo de las galletas *stegobiumpaniceum*(linnaeus 1761) (coleoptera: anobiidae) en Peru. Gayana 69(2): 234-240.
- Iannacone, J. & M. Reyes. 2001. Efecto de la rotenona y neem sobre *Bemisiatabaci*Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) y *Liriomyzahuidobrensis*Blanchard (Diptera: Agromyzidae) plagas del tomate en el Perú. Agronomía Trop. 51: 65-79.
- Iannacone, J. & G. Iamas. 2003a. Plantas biocidas usadas en el control de la polilla de la papa, *Phthorimaeaoperculella*(Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Rev. per. Ent. 43: 79-87.
- 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.

- Lam, L. K. T, Zheng, B. 1991. Effects of essential oils on Glutathione S-transferase activity in mice. *J. Agric. FoodChem.* 39, 660-662.
- Larraín, P. 1994. Manejo Integrado de Plagas en Granos Almacenados. *IPA La Platina* 81:10-16.
- Lilja, N. and Bellon, M. 2006. Analysis of participatory research projects in the international maize and wheat improvement center. Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo. El Batán, Estado de México, México.
- Mareggiani, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Manejo Integrado de Plagas* 60:22-30.
- Martínez, D. M. 2005. Guía para el aprovechamiento del orégano *Lippia berlandieri* Schawer. En la zona norte de Jalisco. México. Campo experimental los Colomos México No.1 INIFAP. C.E. Forestal los Colomos.
- Mauvais, J. P., Kuttann, F., Gompel, A. 1986. Estradiol progesterone interaction in normal and pathologic breast cells. *Annals New York Academy Sci*, 464: 152-167.
- Milos, M, Mastelic, J., Jerkovic I. 2000. Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare L. ssp. hirtum*). *FoodChem.* 71, 79-83.
- Moreno, E. M. 1996. Análisis físicos y fisiológicos de semillas agrícolas. Tercera edición. UNAM. Ciudad universitaria, México, D. F. Pp 393.
- Mcdonald, M. B. 1998. Seed quality assessment. *Seed Science and Technology* 8:265-275.
- Navarro, S. 2006. New global challenges to the use of gaseous treatments in stored product. 9th International Working Conference on Stored Product Protection. Plenary session 6. Fumigation and Control Atmosphere. Keynotes, 495 - 509 pps.
- Oladimeji, F. A, Orafidiya O, Ogunniyi T. A. B, Adewunmi T. A. 2000. Pediculocidal and scabicideal properties of *Lippia multiflora* essential oil. *J. Ethnopharmacol.* 72: 305-311.
- Pascual, M. E, Slowing, K., Carretero, E. Sánchez, M. D. Villar A. 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. *J. Ethnopharmacol.* 76, 201-214

- Pascual, V. M. J., Ballesta, A. M. C. y Soler A. 2004. Toxicidad y repelencia de aceites esenciales en plagas de almacén del arroz. *Bol. San. Veg, Plagas*, 30: 279.
- Pereira da Silva, F.A. 1993. Manual de manejo poscosecha de granos a nivel rural. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación. Capítulo V. Conservación y Protección de los Granos Almacenados.
- Pérez, F., Silva, G. & Tapia, R. 2007. Variación anual de las propiedades insecticidas de *Peumus boldus* sobre *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 42:633
- Pérez, M. P. y Pascual, V. M. J. 1999. Efectos del aceite esencial de inflorescencias de *Chrysanthemum coronarium* L. en mosca blanca y plagas de almacén. Estación Sericícola. Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. CIDA. 30150 La Alberca. Murcia. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* Vol. 14 (1-2).
- Programa Regional de Postcosecha. PRP. 1998. Recomendaciones para almacenamiento: problemas y manejo. http://www.postcosecha.net/en/Home/About_POSTCOSECHA/Technology_of_Silo_Use_and_Management
- Rastrelli L, Caceres A, Morales C, De Simone F, Aquino R. 1998. Iridoids from *Lippia grievei*. *Phytochem.* 49 (6), 1829-1832.
- Rees, P. 1996. Coleoptera. p. 1-40. In B. Subramanyam, and D. Hagstrum (eds.) *Integrated management of insects in stored products*. Marcel Dekker, New York, USA.
- Reigart, J. y J. Roberts., 1999. *Recognition and Management of Pesticide Poisonings*. EPA, 5ª ed. Atlanta.
- Rodríguez, H. C. 2000. Plantas contra plagas: potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco. Texcoco, México: Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM). 133p.
- Salvadores U., Silva A., Tapia V. y Hepp G. 2007. Polvos de especias aromáticas para el control del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, en trigo almacenado. *Agricultura técnica - Vol. 67 - No 2 - 2007*.
- Sahaf, B.; Moharramipour, S. & Meshkatsadat, M. 2008. Fumigant toxicity of essential oil from *Vitex pseudo-negundo* against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 11:175-179.

- 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.
- Serna, S. 1996. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT Editores. México. 521p.
- SAS Institute Inc. 2000. Guide for personal computers. SAS institute, Cary, N.C.
- Silva, G.; Lagunes, A.; Rodríguez, J.; Rodríguez, D. 2002. Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología, 66:4- 12.
- Silva, V. R. 2003. El Orégano (*Lippia belandieri*) como alternativa de producción agrícola sustentable para las zonas áridas y semiáridas de México. Folleto para productores. CIRENA. Saltaices, Chihuahua.
- Sorensen, F. C. & Campbell, R. K. 1993. Seed weight-seedling size correlation in coastal Douglas-fir: genetic and environmental components. Canadian Journal of Forest Research. 23:275
- Tárrega, I, Rivas F., 1998. Essential oils from wild and micropropagated plants of *Origanum bastetanum*. Phytochem. 48 (8): 1347-1349.
- Tigar, B. J.; Key, G. E.; Flores, S. M. E. and Vazque, A. M. 1994. Field and post-maturation infestation of maize by stored product pest in Mexico. J. Stored Prod. Res. 30:1-8.
- Tinoco, C. A; Rodríguez, F. A; Sandoval, J. A; Barrón, F. S; Palafox, C. A; Esqueda, E. V; Sierra, M. M; Romero, M. J., 2002. Manual de producción de maíz para los estados de Veracruz y Tabasco. Guía Técnica Núm. 20. 113 p.
- Torres, T. F. 1995. El sistema poscosecha y la alimentación nacional. In: E. Moreno, F. Torres, e I. Chong (eds.). Programa Universitario de Alimentos Universidad Autónoma de México. México D. F. 200 p.
- Viglianco, A.I.; R.J. Novo, C.I. Cragolini y M. Nassetta. 2006. Actividad biológica de extractos crudos de *Larrea divaricata* Cav. y *Capparis tamiagua* Kuntze sobre *Sitophilus oryzae* (L.). Agriscientia, Vol. XXIII (2): 83-89.

- White, N. 1995. Insects, mites and insecticides in stored grain ecosystems p. 123-168. *In* D. Jayas, N. White, and W. Muir (eds.) *Stored grain ecosystems*. Marcel Dekker, New York, USA.
- White, N. and J. Leesch. 1996. Chemical control. p. 287-330. *In* B. Subramanyam, and D. Hagstrum (eds.) *Integrated management of insects in stored products*. Marcel Dekker, New York, USA.
- Zava DT, Dollbaum Cm, Blen M. 1998. Estrogen and progestin bioactivity of foods, herbs and spices. *SocExpBiol Med*. 217(3): 369-378.