

Efectividad de los extractos vegetales de orégano silvestre (*Lippia organoides* K.) y citronela (*Cymbopogon citratus* D.C.) sobre *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae)

Effectiveness of plant extracts of wild oregano (*Lippia organoides* K.) and citronella (*Cymbopogon citratus* D.C.) on *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae)

Luisiris Flores¹; Yohan Solano^{2*}; María Elena Sanabria³; Dilcia Hernández⁴

RESUMEN

Los extractos vegetales foliares han sido usados como plaguicidas y/o repelentes contra bacterias, hongos y artrópodos. La actividad biológica de estos preparados se debe a los metabolitos secundarios (MS), compuestos que las plantas sintetizan y cuya concentración varía aún en sus órganos. Se determinó por cromatografía de capa fina la concentración de los grupos de MS en extractos etanólicos (EE) obtenidos a partir de hojas de orégano (*Lippia organoides* K.) y citronela (*Cymbopogon citratus* D.C.) y se evaluó el efecto de los mismos sobre *Rhyzopertha dominica* (F.) a las concentraciones de 40, 60, 80, 85 y 95% para ambos EE, en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x5. El estudio fitoquímico permitió determinar la presencia en los EE de orégano y citronela, de aceites esenciales, saponinas (2,02 mm y 3,46 mm), alcaloides (0,0975 y 0,1223 µL/mL), fenoles (0,0899 y 0,11375 µL/mL) y flavonoides (0,1055 y 0,1312 µL/mL), respectivamente. Se presentaron además diferencias significativas ($P < 0,01$) entre las concentraciones evaluadas, obteniéndose al 95% valores de mortalidad de 56,75%. De igual modo, se presentaron diferencias significativas entre la mortalidad ocasionada por ambos EE ($P < 0,05$), donde el porcentaje de mortalidad a la concentración de 60%, fue mayor con el EE de orégano (35,5%) que con el de citronela (16%), mientras que a dosis mayores, la efectividad de éste último fue siempre superior a la de orégano. Los MS en los EE resultaron efectivos ocasionando valores aceptables de mortalidad en *R. dominica*, a altas concentraciones, recomendándose su uso como control preventivo.

Palabras clave: insecticida, metabolitos secundarios, mortalidad.

ABSTRACT

Vegetal extracts from leaves have been used as pesticides and/or repellents against bacteria, fungi and arthropods. The biological activity of this extracts is due to presence of secondary metabolites (SM), which are synthesized by plants and its concentration varies even in their organs. The concentration of SM groups was determined by layer chromatography in ethanolic extracts (EE) obtained from leaves of oregano (*Lippia organoides* K.) and citronella (*Cymbopogon citratus* D.C.) and the effect of them was evaluated on *Rhyzopertha dominica* (F.) at concentration of 40, 60, 80, 85 and 95% for both of EE, in a random design with factorial array 2x5. The phytochemistry study allowed determine presence in EE of oregano and citronella of essential oil, saponins (2.02 mm and 3.46 mm), alkaloids (0.0975 and 0.1223 µL/mL), phenols (0.0899 and 0.11375 µL/mL) and flavonoids (0.1055 and 0.1312 µL/mL), respectively. There were significant differences ($P < 0.01$) between concentrations evaluated, where dose of 95% caused 56.75% of mortality. In the same way, significant differences between mortality caused for both of EE ($P < 0.05$) were registered, where the mortality percentage at concentration of 60%, was higher with EE of oregano (35.5%) than with of citronella (16%), while the effectiveness of the latter was always superior to that of oregano, higher doses. SM's in EE were effective producing acceptable values of mortality in *R. dominica*, to high doses, and its use is recommended as preventive control.

Key words: insecticide, secondary metabolites, mortality.

¹ Programa de Ingeniería Agroindustrial. Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Lara, Venezuela.

² Departamento de Ecología y Control de Calidad. Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Lara, Venezuela.

³ Posgrado de Agronomía. Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Lara, Venezuela.

⁴ Departamento de Ciencias Biológicas. Decanato de Agronomía. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Lara, Venezuela.

* Autor para correspondencia: ysolano@ucla.edu.ve

Fecha de Recepción: 27 Junio, 2017.

Fecha de Aceptación: 23 Octubre, 2017.

DOI:

Introducción

El ataque de insectos a granos y alimentos como harinas, galletas y pastas, es una de las principales causas de pérdida de estos productos cuando se encuentran en almacenamiento. El daño producido por estas plagas está asociado a la reducción del peso, deterioro del poder y energía germinativa de las semillas, disminución del valor comercial, contaminación por los residuos corporales y de su metabolismo, y la aparición de hongos (Alonso *et al.*, 2009).

En el control de los insectos plaga en la agroindustria, los insecticidas ha sido los más utilizados debido a su rápida acción en reducir las poblaciones; sin embargo, los productos químicos dejan residuos tóxicos que afectan la salud de consumidores, así como también promueven la aparición de resistencia genética, cuando su uso es indiscriminado (Devine *et al.*, 2005). Es por ello que diversas investigaciones han evaluado alternativas ecológicas de control como el uso de metabolitos secundarios (MS) contenidos en extractos vegetales (EV) (Olivero *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2013; Pino *et al.*, 2013; Priya *et al.*, 2016).

Los metabolitos secundarios son compuestos sintetizados por las especies vegetales durante su desarrollo, sin embargo las plantas expuestas a condiciones adversas como el ataque de herbívoros y de microorganismos como virus, bacterias, hongos; competencia por espacio, luz y nutrientes u otro tipo de estrés biótico o abiótico (salinidad, temperatura, entre otros), tienden a aumentar la concentración de los MS (Sepúlveda *et al.*, 2004; Celis *et al.*, 2008).

Entre los principales grupos de MS se encuentran los terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides (Avalos y Pérez 2009), los cuales pueden estar contenidos en aceites esenciales (AE), extractos acuosos (EA), extractos etanólicos (EE) o polvos vegetales (PV). Estos extractos pueden tener efecto insectistático o repelente ya que son capaces de inhibir el desarrollo de los insectos al afectar su alimentación (atracción o fagodepresión), el sistema nervioso (desorientación), el comportamiento reproductivo (inhibición de la oviposición) y/o produciendo mortalidad cuando resultan altamente tóxicos (Sepúlveda *et al.*, 2003; Celis *et al.*, 2008; Pino *et al.*, 2013).

El orégano silvestre (*Lippia origanoides* K.) y la citronela (*Cymbopogon citratus* D.C) son especies vegetales utilizadas como potenciadores de sabor y con fines medicinales, que han sido estudiadas por el efecto que producen en insectos plaga como *T. castaneum* y *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Olivero *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2013). Entre los metabolitos registrados para *L. origanoides* se encuentran los terpenos, alcaloides, cetona monoterpénica, flavonoides y fenilpropanoides (Castañeda *et al.*, 2007), mientras que para *C. citratus* se han señalado los terpenos, alcaloides y compuestos fenólicos (Avoseh *et al.*, 2015).

La especie *Rhizopertha dominica* F., conocida como barrenador de los granos, se encuentra distribuida alrededor del mundo y es considerada la principal plaga del trigo, el maíz y el arroz almacenado (Alonso *et al.*, 2009). Este insecto ha desarrollado resistencia a insecticidas (Schlipalius *et al.*, 2002; Rajendran y Gunasekaran, 2002), por lo cual diversas investigaciones han evaluado los EV como alternativas para su control (Reyes *et al.*, 2012; Khaliq *et al.*, 2014; Priya *et al.*, 2016). En este sentido, la presente investigación se condujo con la finalidad de evaluar la efectividad de los EV foliares de orégano silvestre y citronela sobre *R. dominica*, una de las especies más perjudiciales en granos y productos almacenados.

Materiales y Métodos

Colecta y cría de *R. dominica*

Los adultos del barrenador fueron obtenidos de granos de maíz infestado proveniente de crías del Laboratorio de Biología y Fisiología Poscosecha del programa de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Lara, Venezuela. Se seleccionaron grupos de 50 adultos de *R. dominica* no sexados y de edades mezcladas, los cuales se colocaron sobre 250 gramos de maíz amarillo en envases de 500 ml de capacidad, tapados con un trozo de tela de organdí sujeta con una banda de goma para permitir la ventilación. Este procedimiento se repitió hasta completar 3 kg de maíz infestado, con la finalidad de garantizar un suministro permanente de adultos.

Los insectos se mantuvieron en los frascos por 3 semanas para permitir su reproducción y oviposición. Posteriormente, los adultos parentales fueron removidos de los envases para esperar la emergencia de los individuos que conformaron la primera generación (F1), los cuales fueron aislados con 2 o 3 semanas de edad y usados en las pruebas biológicas.

Obtención de los extractos etanólicos de Lippia origanoides y Cymbopogon citratus

Se colectaron hojas frescas y aparentemente sanas de orégano silvestre y citronela, de plantas ubicadas en el campo experimental del Posgrado de Agronomía de la UCLA; las mismas fueron secadas bajo sombra, se molieron en una licuadora convencional Oster® y se maceraron en frascos de vidrio con etanol (96%) durante 24 horas. Posteriormente, el solvente fue separado por destilación, utilizando un rotavapor Brinkmann y el extracto crudo fue envasado en frascos estériles ámbar y almacenados bajo refrigeración a $8 \pm 2^\circ\text{C}$, hasta su utilización en los análisis fitoquímicos y aplicación en los experimentos.

Determinación de metabolitos secundarios en los extractos etanólicos de Lippia origanoides y Cymbopogon citratus

Determinación cualitativa

La determinación de alcaloides, fenoles y flavonoides en los EE foliares de orégano silvestre y citronela, se realizó por cromatografía de capa fina utilizando la metodología de Marcano y Hasegawa (2002). Para ello, se usaron dos cromatofolios de sílica gel (Merk® 6,5 cm de largo x 2,5 cm de ancho) y en cada uno de ellos se colocaron dos gotas (20 μL) del EE correspondiente a 1 cm de uno de sus extremos, utilizando una micropipeta. Seguidamente, los cromatofolios se colocaron en cámaras cromatográficas que contenían el

eluyente específico para cada grupo de MS a separar: n-butanol + ácido acético + agua (9:2:1), agua + ácido acético (9:1) y benceno + ácido acético + agua (12:7:2). Para el revelado de las cromatografías se consideró el color naranja intenso como indicativo de alcaloides, mientras que la presencia de fenoles fue mostrada por una coloración parda oscura cuando se rocía cloruro férrico al 1%, y para flavonoides el color blanco fluorescente, respectivamente.

Los aceites esenciales se determinaron por el olor característico que confieren estos MS a cada EE evaluado, mientras que las saponinas se determinaron mezclando 1 ml de cada extracto con 1 ml de agua destilada, seguidamente se tomó 1 ml de la mezcla y se colocó en un tubo de ensayo para agitar vigorosamente hasta la formación de espuma. La persistencia de ésta, luego de 15 min, fue considerada como positiva para saponinas y su contenido fue valorado de acuerdo a los rangos señalados por Cuellar *et al.*, (1999): 0 mm (negativo); 0,1 - 5 mm (muy bajo); 5,1 - 9 (bajo); 9,1 - 14 (moderado) y mayor de 14 mm (alto).

Determinación cuantitativa

Las corridas de cromatografía hechas para la determinación cualitativa fueron usadas para la cuantificación de los grupos de MS utilizando la metodología descrita por Vásquez *et al.* (2008). Para ello, se marcó el área ocupada por el MS en el cromatofolio de sílica gel y con ayuda de un perforador se extrajeron tres secciones: el área conocida (AC) (MS + sílica + solvente), el área desconocida (AD) (espacio restante del área recorrida por el metabolito: MS + sílica + solvente, la cual se raspo y peso), y el área testigo (ACt) (cromatofolio testigos con sílica + solvente los cuales se perforaron y rasparon). Cada una de las muestras se pesó en una balanza analítica Ohaus Adventure™ N° AR2140, y los datos fueron introducidos en la siguiente ecuación:

$$\mu\text{g de } \frac{\text{MS}}{\text{ml}} = \frac{\left[\left(\left(\left(\text{AD} \times \frac{\text{AC} - \text{ACt}}{\text{AC}} \right) + (\text{AC} + \text{ACt}) \right) * 1000 \right) * 1000 \right]}{20\mu\text{l}}$$

Donde MS representa a alcaloides, fenoles o flavonoides, respectivamente, y 20 µl el volumen del extracto que se agregó a cada cromatofolio.

Efecto de los extractos etanólicos de Lippia origanoides y Cymbopogon citratus sobre Rhyzopertha dominica

Se seleccionaron granos de maíz enteros, aparentemente sanos, sin grietas y limpios, se pesaron en una balanza electrónica KERN^{MR}, Modelo EMB220-1, para conformar muestras de 20 g. Seguidamente, cada una se colocó en una bandeja plástica y se asperjaron con 1 ml del tratamiento correspondiente (EE de orégano o citronela a concentraciones de 40, 60, 80, 85 y 95%) y un testigo, para el cual solo se agregó agua, y se esperó por un periodo de 5 min para permitir la impregnación de los granos con el extracto.

Una vez impregnados, se colocaron en envases de plástico de 120 g de capacidad y se introdujeron 20 adultos de *R. dominica*, no sexados y con edades comprendidas entre 2 a 3 semanas. Cada envase se selló con una tapa que tenía un orificio (2 cm de diámetro) cubierto con un trozo de tela organdí para permitir la ventilación, y se observaron cada 24 horas hasta completar 96 horas. En cada observación, los envases fueron destapados para contar la cantidad de insectos vivos (con movilidad) o muertos (detención completa de movimiento y/o comportamiento y movimiento descoordinados). Los adultos de *R. dominica* vivos, fueron retornados al envase con granos de maíz tratado, mientras que los considerados como muertos se aislaron en nuevos envases con granos de maíz no tratado y se mantuvieron en observación por 24 horas, para comprobar la muerte de los mismos. Cuando éstos permanecían vivos, fueron regresados al envase con el tratamiento correspondiente.

Cada tratamiento fue replicado 5 veces y cada repetición estuvo conformada por dos unidades experimentales. Se siguió un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x5, donde el primer factor correspondió a los EE y el segundo a las cinco concentraciones evaluadas. El efecto insecticida de los extractos etanólicos sobre adultos de *R. dominica*, se consideró como una relación directa con el porcentaje de insectos muertos.

El porcentaje de mortalidad fue corregido de acuerdo a la fórmula de Abbott (1925), la cual describe:

$$P_c = \left(\frac{P_{exp} - P_{cont}}{100\% - cont} \right) \times 100$$

Donde P_c representó el porcentaje de mortalidad corregido, P_{exp} el porcentaje de mortalidad experimental, y P_{cont} el porcentaje de mortalidad control.

Análisis de datos

Los datos de porcentaje de mortalidad fueron sometidos a análisis de varianza y posteriormente a pruebas de medias según Tukey utilizando el paquete estadístico Statistix versión 10.0. Los porcentajes de mortalidad fueron transformados a arcoseno ya que estos presentaron una distribución binomial.

Resultados y Discusión

Determinación y cuantificación de los grupos de metabolitos secundarios en los extractos etanólicos de orégano silvestre (*Lippia origanoides*) y citronela (*Cymbopogon citratus*)

Se evidenció la presencia de alcaloides, fenoles, flavonoides, aceites esenciales y saponinas en los EE de orégano y citronela, y se determinó que estos grupos de MS se encontraban menos concentrados en el primero que en el segundo (Tabla 1). Estos resultados coincidieron con los señalados por Alvarado *et al.* (2011), Sivira *et al.* (2011) y Fernández *et al.* (2016) quienes detectaron la presencia de estos MS en las mismas especies vegetales. Sin embargo, contrario a estos resultados, Bolívar *et al.* (2009) no reportaron la presencia de saponinas en el EE de orégano silvestre.

La presencia de estos grupos de MS en los extractos evaluados, permite asociarlos con los mecanismos de defensa contra insectos, ya que los alcaloides tienen la capacidad de bloquear neuroreceptores intermediarios y canales iónicos (Sepúlveda *et al.*, 2003) y los fenoles intervienen en el desarrollo y obstrucción de las vías respiratorias del insecto (Sepúlveda *et al.*, 2003; Celis *et al.*, 2008). Por su parte, los flavonoides inhiben el transporte de electrones en las mitocondrias generando una reducción del consumo de oxígeno que provoca convulsiones y muerte (Celis *et al.*, 2008), mientras que las saponinas tienen efecto disuasorio de alimentación, retraso en el desarrollo

Tabla 1. Metabolitos secundarios encontrados en los extractos etanólicos de *Lippia origanoides* y *Cymbopogon citratus*

Metabolitos Secundarios	Lippia origanoides		Cymbopogon citratus	
	Presencia (+) Ausencia (-)	Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Presencia (+) Ausencia (-)	Concentración ($\mu\text{L}/\text{mL}$)
Alcaloides	+	0,0975	+	0,1223
Fenoles	+	0,0899	+	0,11375
Flavonoides	+	0,1055	+	0,1312
Saponinas	+	2,02 mm	+	3,46 mm
Aceites esenciales	+	-	+	-

y disminución de la reproducción en los insectos (De Geyer *et al.*, 2007).

Diversas investigaciones han indicado que los MS presentes en *L. origanoides* y *C. citratus* pueden actuar como barreras protectoras contra insectos al obstruir sus vías respiratorias por olores tóxicos en sus aceites esenciales, así como también pueden tener efecto disuasorio de la alimentación y/o causar la muerte (Antolinez *et al.*, 2008; Acevedo *et al.*, 2013).

Efecto de los extractos etanólicos de *Lippia origanoides* y *Cymbopogon citratus* sobre la mortalidad de adultos de *R. dominica*

Las concentraciones de los EE de orégano y citronela (40, 60, 80, 85 y 95%) produjeron un efecto significativo sobre la mortalidad en adultos de *R. dominica* mostrando diferencias entre ellas ($P < 0,01$) (Tabla 2). La Figura 1 muestra que la mortalidad del barrenador incrementó a medida que aumentó la dosis, no obstante el porcentaje de mortalidad producido al 95%, ligeramente superó el 50% de la población estudiada. El efecto de los EE al 80 y 85% no fue significativamente diferente ($P < 0,01$) con valores de mortalidad de

45 y 44%, respectivamente. Los porcentajes más bajos de mortalidad se ubicaron en 25,75 y 10,5% a las dosis de 60 y 40%, respectivamente.

En el ANOVA (Tabla 2) también se indican diferencias significativas ($P < 0,05$) en la interacción entre los factores concentración por extracto, para la variable porcentaje de mortalidad de *R. dominica*, la cual se afectó en forma directa con el incremento de las concentraciones de los EE de orégano y citronela (Figura 2). El mayor porcentaje de mortalidad del barrenador (65%) fue producido por el EE de citronela al 95%, el cual fue significativamente diferente del producido por el orégano (48,5%) a la misma dosis. El efecto de ambos EE al 80 y 85% fue también significativamente diferente ($P < 0,01$) entre ambos extractos, y siempre mayor en citronela que en orégano.

A la dosis de 60%, la mortalidad presentó diferencias estadísticas, siendo mayor para el orégano (35,5%) que para citronela (16%). Las concentraciones de 60, 80 y 85% del EE de orégano no registraron diferencias significativas en el porcentaje de mortalidad, mientras que la dosis de 40% de ambos extractos mostró la mortalidad más baja de las dosis evaluadas.

Resultados similares fueron obtenidos por Gandhi y Pillai (2011) cuando aplicaron hojas

Tabla 2. ANOVA del efecto de las concentraciones de los extractos etanólicos de *Lippia origanoides* y *Cymbopogon citratus* sobre el porcentaje de mortalidad de adultos de *R. dominica*

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Concentración	4	0,26092	0,06523	16,52	0,0000**
Extracto	1	0,00139	0,00139	0,35	0,5563 ns
Concentración* extracto	4	0,04646	0,01162	2,94	0,0320*
Error	40	0,15798	0,00395		
Total	49	0,46675			

* Significativo a $P < 0,05$; ** Significativo a $P < 0,01$. ns: no significativo.

C.V. 24.45

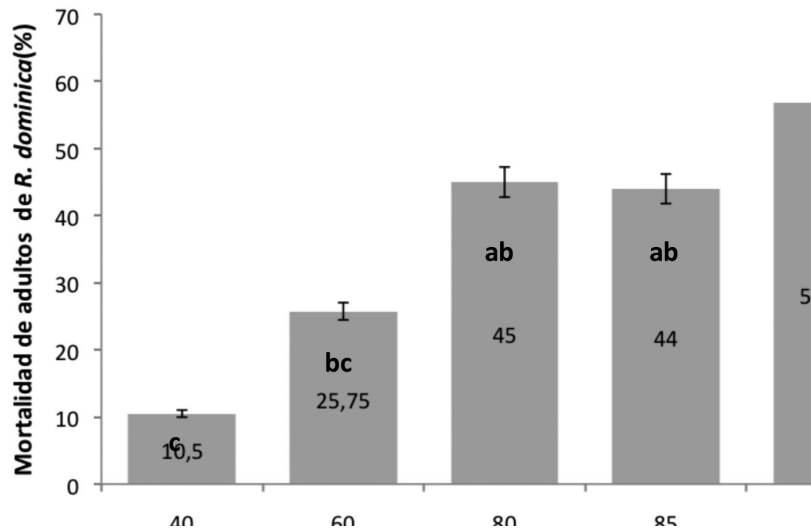


Figura 1. Mortalidad (%) promedio de adultos de *R. dominica* ante el efecto de las concentraciones de los extractos etanólicos de *Lippia origanoides* y *Cymbopogon citratus* (Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente, Tukey $P < 0,01$)

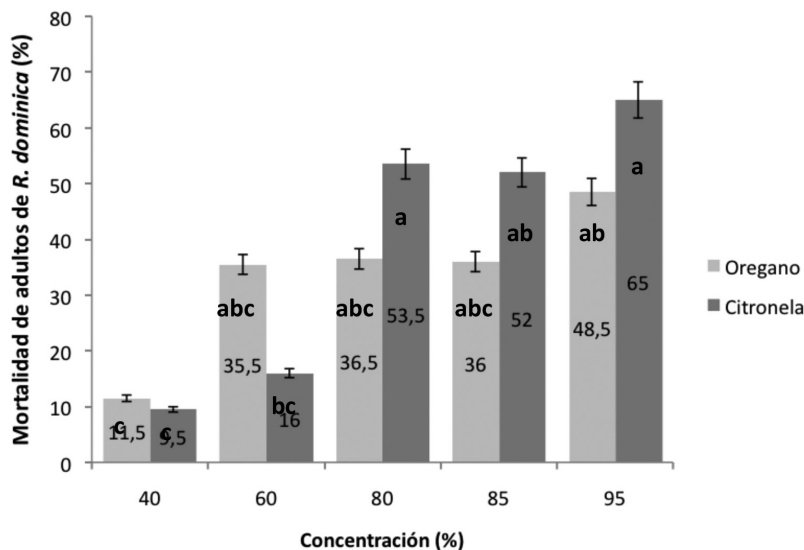


Figura 2. Mortalidad (%) promedio de adultos de *R. dominica* ante el efecto de los extractos etanólicos de orégano y citronela, evaluados a cinco concentraciones. (Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente, Tukey $P < 0,01$)

pulverizadas de granada (*Punica granatum* (L.) y curry (*Murraya koenigii* L.) sobre granos de trigo (79% - 65%) y arroz (79%) ofrecido a *R. dominica*, respectivamente, argumentando que las diferencias se debieron a la protección que brindó el grano de trigo al insecto. De igual forma, Khaliq *et al.* (2014) señalaron que la mortalidad del barrenador incrementó de 40,19 hasta 50,36%

en la medida que la dosis del extracto de acetona de berberia (*Nerium oleander* L.) aumentó de 5 a 15%, mientras que Priya *et al.* (2016) obtuvieron porcentajes de mortalidad de 53 y 58% utilizando extractos de frutos de *Zanthoxyulum rhetsa* Roxb.

El efecto insecticida producido por los EE de orégano y citronela sobre adultos de *R. dominica*, están asociados con la toxicidad

ocasionada por los MS de ambos extractos, los cuales pudieron inducir inanición y/o asfixia del insecto. Adicionalmente, se deduce que la mayor cantidad de alcaloides, fenoles, flavonoides y saponinas del EE de citronela, pudo contribuir a que este extracto mostrara mayor efectividad en producir mortalidad. Al respecto, Ileke y Bulus (2012) mencionaron que los extractos pueden producir muerte por toxicidad de contacto o

inducir asfixia por olores tóxicos y obstrucción de espiráculos, así como también pueden inhibir la locomoción, y en consecuencia reducir la capacidad para buscar alimento.

Agradecimiento

Al CDCHT - UCLA por el apoyo brindado a través del proyecto 1101-RAG-2017.

Literatura Citada

- Abbott, W.
1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economy Entomology*, 18: 265-267.
- Acevedo, D.; Navarro, M.; Monroy, L.
2013. Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*). *Información Tecnológica*, 24 (4): 43-48.
- Alonso, M.; Ávila, J.; Calcagno, M.
2009. Los cereales en el trópico suramericano: Técnicas modernas de conservación. CDCHT ULA - Fundación Empresas Polar. Caracas, Venezuela. p. 446.
- Alvarado, S.; Ulacio, D., Sanabria, M., Pineda, J.
2011. Compatibilidad in vitro de extractos vegetales y *Trichoderma harzianum* y su efecto en el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* Sacc., y *Sclerotium cepivorum* Berk. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 45 (3): 217-236.
- Antolínez, J.; Colmenarez, N.; Usabillaga, A.; Darghan, E.; Linares, S.
2008. Evaluación de variables agronómicas en el cultivo de limonaria (*Cymbopogon citratus* D.C) para la producción de aceite esencial. *Interciencia*, 33 (9): 693-699.
- Avalos, A.; Pérez, E.
2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología. Serie Fisiología Vegetal*, 2 (3): 119-145.
- Avoseh, O.; Oyediji, O.; Rungqu, P.; Nkeh-Chungag, B.; Oyediji, A.
2015. *Cymbopogon* Species; Ethnopharmacology, Phytochemistry and the Pharmacological Importance. *Molecules*, 20: 7438-7453.
- Bolívar, K.; Sanabria, M.; Rodríguez, D.; Camacaro, M.; Ulacio, D.; Cumana, L.; Crescente, O.
2009. Potencial efecto fungicida de extractos vegetales en el desarrollo in vitro del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., y de la antracnosis en frutos de mango. *Revista UDO Agrícola*, 9 (1): 175-181.
- Castañeda, M.; Muñoz, A.; Martínez, J.; Stanshenko, E.
2007. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. *Scientia et Technica* 13(33): 165-166.
- Celis, A.; Mendoza, C.; Pachón, M.; Cardona, J.; Delgado, W.; Cuca, L.E.
2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, 26 (1): 97-106.
- Cuellar, A.; Márquez, I.; Hernández, J.; Alemán, A.
1999. Estudio fitoquímico de la especie *Hibiscus elatus* s.w. *Revista Cubana de Farmacia*, 33 (2): 127-31.
- De Geyter, E.; Lambert, E.; Geelen, D.; Smagghe, G.
2007. Novel advances with plant saponins as natural insecticides to control pest insects. *Pest Technology*, 1 (2): 96-105.
- Devine, G.J.; Dominique, E.; Ogosuku, E.; Furlong, M.J.
2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25 (1): 74-100.
- Fernández, O.; Sandoval, M.F.; Sanabria, M.E.; Vásquez, C.
2016. Efectividad *in vitro* del extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* (D.L.) Stapf y Hexythiazox sobre *Raoiella indica* Hirst. *IDESA*, 34 (2): 77-84.
- Gandhi, N.; Pillai, S.
2011. Control of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) by pulverized leaves of *Punica granatum* (Lythraceae) and *Murraya koenigii* (Rutaceae). *International Journal of Agriculture and Biology*, 13 (4): 535-540.
- Ileke, K.; Bulus, D.
2012. Response of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) to powders and extracts of *Azadirachta indica* and *Piper guineense* seeds. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 5 (4): 315-320.
- Khaliq, A.; Javed, M.; Hannan, M.; Yasir, M.; Sangheer, M.; Hasan, M.
2014. Biocidal and repellent effect of *Saccharopolyspora spinosa* and *Nerium oleander* extract against stored product pests. *Basic Research Journal of Agricultural Science and Review*, 3 (6): 49-54.
- Lima, A.; Broglio, S.M.F.; Araujo, A.M.N.; Lopes, D.O.P.; Dias-Pini, N.S.
2013. Efeito de pós vegetais sobre *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, 80 (1): 91-97.
- Marcano, D.; Hasegawa, M.
2002. Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela (UCV). Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (CDCHT). Editorial Torino. 1^{era} edición. Caracas- Venezuela. 588 p.
- Olivero, J.; Caballero, K.; Jaramillo, B.; Stashenko, E.
2009. Actividad repelente de los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Citrus sinensis* y *Cymbopogon nardus*, cultivadas en Colombia frente a *Tribolium castaneum* Herbst. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41 (3): 244-250.
- Pino, O.; Sánchez, Y.; Rojas, M.
2013. Plant secondary metabolites as alternatives in pest management. II: An overview of their potential in Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 28 (2): 95-108.

- Priya, A.; Trupti, S.; Mira, R.; Aparna S.
2016. Control of *Rhyzopertha dominica* by various solvents extracts of fruits of *Zanthoxylum rhetsa* Roxb dc (Rutaceae). *International Journal of Recent Scientific Research*, 7 (6): 12061-12070.
- Rajendran, S.; Gunasekaran, N.
2002. The response of phosphine-resistant lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* and rice weevil *Sitophilus oryzae* in mixed-age cultures to varying concentrations of phosphine. *Pest Management Science*, 58 (3): 277-281.
- Reyes-Guzmán, R.; Borboa-Flores, J.; Cinco-Moroyoqui, F.J.; Rosas-Burgos, E.C.; Osuna-Amarillas, P.S.; Wong-Corral, F.J.; Ortega-Nieblas, M.M.; León-Lara, J.D.
2012. Actividad insecticida de aceites esenciales de dos especies de *Eucalyptus* sobre *Rhyzopertha dominica* y su efecto en enzimas digestivas de progenies. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 18 (3): 385-394.
- Sepúlveda, G.; Porta, H.; Rocha, M.
2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21 (3): 355-363.
- Schlupalius, D.; Cheng, Q.; Reilly, P.; Collins, P.; Ebert, P.
2002. Genetic linkage analysis of the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* identifies two loci that confer high-level resistance to the fumigant phosphine. *Genetics*, 161 (2): 773-782.
- Sivira, A.; Sanabria, M.E.; Valera, N.; Vásquez, C.
2011. Toxicity of ethanolic extracts from *Lippia origanoides* and *Gliricida sepium* to *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae). *Neotropical Entomology*, 40 (3): 375 -379.
- Vásquez, C.; Aponte, O.; Morales, J.; Sanabria, M.; García, G.
2008. Biological studies of *Oligonychus punicae* (Acari: Tetranychidae) on grapevine cultivars. *Experimental and Applied Acarology*, 45 (1-2): 59-69.