

Bioactividad de extractos de hojas de *Aloysia polystachya* (Verbenaceae) en larvas y adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae)

F. S. GUTIERREZ, N. STEFANAZZI, A. P. MURRAY, A. A. FERRERO

Se evaluó la bioactividad de extractos hexánico y etanólico de hojas de *Aloysia polystachya* (Verbenaceae) en larvas y adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). La actividad repelente en larvas de 25 días se registró a las 24 h. Para ambos extractos, el Índice de Repelencia aumentó con la concentración observándose una repelencia del 60% para el extracto hexánico a la mayor dosis evaluada. Se obtuvo buena actividad repelente en adultos, con valores de repelencia por encima del 60% para ambos extractos a todas las concentraciones. Los extractos etanólicos y hexánicos de *A. polystachya* presentaron actividad fagodisuasiva leve tanto en larvas como en adultos. En larvas se registraron alteraciones en los Índices Nutricionales solo con el extracto hexánico observándose reducción de la Tasa de Crecimiento Relativa a las concentraciones de 3 y 6 mg/disco y en la Tasa Relativa de Consumo a la mayor concentración. En cuanto a los adultos, el extracto etanólico produjo una reducción de la Tasa Relativa de Consumo a las concentraciones de 0,75; 3 y 6 mg/disco. Solamente se registro actividad fumigante en larvas con el extracto etanólico a la mayor dosis.

F. S. GUTIERREZ, A. P. MURRAY. Dpto. de Química, Av. Alem 1253. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
N. STEFANAZZI, A. A. FERRERO. Laboratorio de Zoología de Invertebrados II, Dpto de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad nacional del Sur, San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, Argentina. E-mail: aferrero@uns.edu.ar
N. STEFANAZZI, A. P. MURRAY. CONICET.

Palabras clave: gorgojo castaño de la harina, repelencia, índices nutricionales, actividad fagodisuasiva, actividad fumigante.

INTRODUCCIÓN

La problemática medioambiental asociada a la utilización de insecticidas sintéticos frecuentemente utilizados en la agricultura condujo a la intensificación de los esfuerzos para encontrar alternativas seguras, efectivas y viables. En este contexto los insecticidas naturales se imponen como una alternativa menos tóxica para el hombre, de fácil biodegradabilidad, y convenientes para ser utilizados por pequeños agricultores. Los insecticidas de origen vegetal se han utilizado por

productores en pequeña escala en África como protectores de productos almacenados (HASSANALI *et al.* 1990; POSWAL y AKPA 1991; BABA TIERTO 1992; PARH *et al.* 1998).

T. castaneum es una de las plagas clave en grano almacenado en los puertos de Argentina (DESCAMPS *et al.* 2004), que se controlan exclusivamente mediante insecticidas de síntesis en forma intensiva y extensiva (CASA-FE, 2004).

Aloysia polystachya es un arbusto de hojas aromáticas, distribuido en regiones subtropicales de América del Sur, principal-

mente Paraguay y Argentina (MORA *et al.* 2005). Es utilizada en la medicina popular para tratar desordenes gastrointestinales como nauseas, vómitos y gastritis (MARTÍNEZ CROVETO, 1981) y también como sedativo (GONZÁLEZ TORRES, 1996). Como parte de un programa de búsqueda de compuestos naturales bioactivos para el control de insectos plaga de grano almacenado, en el presente trabajo se evaluó la bioactividad de extractos hexánico y etanólico de hojas de *A. polystachya* en larvas y adultos de *T. castaneum*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Vegetal

El material vegetal fue recolectado durante la época estival en las localidades de Lamarque y Pomona, Provincia de Río Negro, Argentina.

Obtención de los extractos

Los extractos polares y no polares de las hojas de *A. polystachya* se obtuvieron por maceración (extracción en frío) del material vegetal fresco. La muestra de material vegetal (273.1 g) se extrajo sucesivamente con hexano (1000 ml) y etanol (1000 ml). Los solventes orgánicos fueron evaporados a presión reducida y se obtuvieron los extractos hexánico y etanólico con rendimientos del 1.32% y 4.03%, respectivamente. Estos extractos se almacenaron a 5°C hasta el momento de su utilización.

Insectos

Todos los experimentos se realizaron en el laboratorio, utilizando crías sincronizadas de *T. castaneum* originadas a partir de ejemplares sin historia de control químico, obtenidas de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de la Plata, Argentina (cepa susceptible U.L.P). Todos los insectos fueron mantenidos en condiciones fijas de temperatura y humedad relativa ambiente (25°C y 70% de humedad relativa) y fotoperíodo 12L:12O. Los ejemplares se alimentaron con

una mezcla de trigo, levadura y leche en polvo (13:1:1).

Bioensayos

Actividad repelente en larvas

Se determinó a través de bioensayos de "impregnación de dieta", (PASCUAL VILLALOBOS 1998). En cajas de Petri de 9 cm de diámetro se identificaron 3 sectores. En uno se colocaron 2 g de dieta tratada con 2 ml de hexano o etanol como control. La zona central se dejó libre. En la zona restante se colocaron 2g de dieta tratada con 2 ml de la soluciones de los extractos hexánicos o etanólicos de hojas de *A. polystachya* a las concentraciones de 7.5, 30 y 60% (p/v). El solvente se dejó evaporar durante 24 h antes de exponer a las larvas. Se realizaron 3 réplicas. A las 24 h de iniciado el ensayo se contó el número de insectos hallados sobre cada sector. Se calculó un Índice de Repelencia IR= $(C - T)/(C + T) \times 100$ siendo C= n° de larvas en la dieta control y T= n° de larvas en la dieta tratada. Valores positivos de IR indican repelencia y valores negativos atractancia. Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y prueba de comparación de medias DMS.

Actividad repelente en adultos

Se utilizó una arena experimental formada por una caja central conectada por cilindros a cuatro cajas distribuidas simétricamente alrededor de la primera. En dos cajas se colocaron 4 g de dieta tratada con 4 ml de soluciones hexánicas o etanólicas de hojas de *A. polystachya* a las concentraciones de 7.5, 30 y 60% (p/v). En las dos restantes, se colocaron 4 g de dieta impregnada con 4 ml de hexano o etanol (control). En la central se liberaron 40 adultos no sexados de *T. castaneum* y la evaluación del ensayo se realizó 24 h después. Se calculó el Índice de Preferencia como I.P.= $(\% \text{ de insectos en la dieta tratada}) - (\% \text{ de insectos en dieta no tratada}) / (\% \text{ de insectos en dieta tratada}) + (\% \text{ de insectos en dieta no tratada})$ donde I.P.: -1.00 a -0.10 indica planta repelente; I.P.: -0.10 a +0.10 planta neutra e I.P.: +0.10 a +1.00

planta atractante (DE OLIVEIRA PROCÓPIO *et al.* 2003). Se realizaron tres réplicas para cada experimento.

Índices nutricionales y actividad fagodisuasiva de los extractos en larvas y adultos

Se prepararon discos de harina (HUANG *et al.*, 2000). Partes alícuotas de 200 μ l de una suspensión de harina en agua (10 g en 50 ml) se colocaron en placas de plástico para formar los discos que se dejaron secar en una cámara a 25°C y 60/70% de HR durante toda la noche. Los discos se pesaron registrándose valores entre 70 y 78 mg. Para determinar el efecto antialimentario se prepararon soluciones hexánicas o etanólicas a las concentraciones de 0,75, 1,5, 3 y 6 mg/disco con las que se trataron discos de harina de trigo, que se pesaron y se colocaron en recipientes separados. Se preparó un grupo control con discos sin tratar. En cada recipiente se colocaron 10 insectos previamente pesados en una balanza marca OHAUS AP210S (210g x 0,1mg). Luego de incubarlos durante 72 horas en condiciones controladas, se registró el peso de los discos, la mortalidad y el peso de los insectos vivos. Se realizaron cinco réplicas. Se calcularon los Índices Nutricionales: Tasa de Crecimiento Relativa (TCR) = $(A-B)/(B \times \text{día})$ donde A = peso de los insectos vivos al tercer día /n° de insectos vivos al tercer día, B = peso original de los insectos /n° total de insectos; Tasa Relativa de Consumo (TRC) = $D/(B \times \text{día})$, donde D = biomasa ingerida (mg)/n° de insectos vivos al tercer día; Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECAI) (%) = $(TCR/TRC) \times 100$ y el Índice Fagodisuasivo (IF) (%) = $[(C - T)/C] \times 100$, donde C = consumo de los discos en el control (mg) y T = consumo de los discos tratados (mg). Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), previa normalización por \sqrt{x} y prueba de comparación de medias (DMS) (Zar, 1999).

Actividad fumigante en larvas y adultos

Tiras de papel de filtro de 3 x 4 cm se impregnaron con 1 ml de solución hexánica

o etanólica de hojas de *A. polystachya*. Después de la evaporación del solvente durante 5 minutos, los papeles de filtro tratados se colocaron en el fondo de un frasco de vidrio de 500 ml (TRIPATHI *et al.* 2002). Se utilizaron 10 larvas de 25 días o 10 adultos no sexados de 3 a 4 días de edad, que se colocaron en pequeños viales de vidrio de 5 cm de alto por 3 cm de diámetro abiertos en ambos extremos y cubiertos por una tela mellada conteniendo medio de cultivo. Cada vial se colgó con hilo de metal en el centro geométrico del frasco, éste fue sellado herméticamente con una tapa. A las 72 h se registró la mortalidad. El parámetro considerado en ambos casos fue la CL50 expresada en mg/l de aire utilizando un programa Microprobit 3.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran que los extractos hexánico y etanólico de hojas de *A. polystachya* presentaron efecto repelente en larvas a todas las concentraciones (Cuadro 1). PASCUAL VILLALOBOS (1998) observó altos índices de repelencia para larvas de 25 días de *T. castaneum* con extractos acetónicos de hojas de *Caléndula arvensis* L. (Compositae) y de hojas y frutos de *C. officinalis* incorporados a la dieta en una concentración de 0,05% ($p < 0,05$). La misma autora en colaboración con ROBLEDOR (1998; 1999), siguiendo la misma metodología, determinaron que los extractos polares y no polares de cuatro plantas del Mediterráneo y del sur de España mostraron actividad repelente en larvas de *T. castaneum*. En nuestro estudio además, se observó que el efecto repelente incrementó con la concentración. El Índice de Repelencia para el extracto etanólico fue menor que el Índice de Repelencia para el extracto hexánico, a la mayor concentración. Estos resultados podrían ser atribuidos a que ciertos metabolitos secundarios con actividad biológica estarían mayormente representados en el extracto menos polar como sugieren HERNANDEZ, *et al.* (1999)

Cuadro 1. Actividad repelente en larvas de 25 días de *T. castaneum* causada por los extractos hexánico y etanólico de *A. polystachya* a diferentes concentraciones por el método de impregnación de dieta.

Extracto	Concentración % (p/v)	IR (%± ES ^a)
Etanol	7.5	33.33a±1.76
	30	33.30a±0.17
	60	44.66a±0.12
Hexano	7.5	26.67a±0.17
	30	20a±0.17
	60	60a±0.11

^a Los valores son las medias sin transformar ± ES. Valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente (DMS, $p > 0.05$).

donde evalúan la bioactividad de extractos crudos de *Vitex trifolia* (Verbenaceae).

Cuando se evaluó la actividad repelente en adultos a través del Índice de Preferencia, se registraron valores altos de IP a todas las concentraciones y para ambos extractos, siendo nuevamente mayores los valores registrados para el extracto hexánico (Cuadro 2). En adultos de *T. castaneum*, Ho *et al.* (1997), evaluando el efecto de extractos polares y apolares de 17 plantas, hallaron que los extractos no polares resultaron en general más repelentes que los extractos polares. Novo *et al.* (1997) destacaron el efecto repelente de extractos clorofórmicos de *Artemisia verlotorum* Lamotte (Compositae) y de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), de extractos etanólicos de *Larrea divaricata* CAV. (Zygophyllaceae) y *Ximena americana* L. (Olacaceae).

La actividad fagodisuasiva medida en el laboratorio es una prueba de no preferencia que se realiza en un periodo corto de tiempo (OMAR *et al.* 2007). Los extractos etanólicos y hexánicos de hojas de *A. polystachya* presentaron actividad fagodisuasiva leve tanto en larvas como en adultos (Cuadro 3 y 4). DANIEWSKI, *et al.* (1988) encontraron que ciertos constituyentes de *Reichardia tingitana* L. (Compositae) produjeron actividad antialimentaria tanto en adultos de *T. confusum* como en larvas de *Trogoderma granarium*. LIU *et al.* (2007), hallaron importantes efectos antialimentarios en *Sitophilus zeamais* y en *T. castaneum* tratando discos de harina con extractos hexánico y etanólico de hierbas medicinales chinas a una concentración de 500 ppm.

El extracto etanólico de hojas de *A. polystachya*, produjo alteraciones de los Índices Nutricionales en larvas. Se redujo la TCR a

Cuadro 2. Actividad repelente en adultos de *T. castaneum* causada por los extractos hexánico y etanólico de *A. polystachya* a diferentes concentraciones.

Extracto	Concentración % (p/v)	Índice de Preferencia ¹ IP	Repelencia %
Etanol	7.5	-0.80	80.8
	30	-0.58	67.4
	60	-0.769	76.9
Hexano	7.5	-1	100
	30	-1	100
	60	-1	100

¹ I.P: -1,00 a -0,10 repelente; I.P: -0,10 a +0,10 neutro; I.P: +0,10 a +1,00 atrayente

Cuadro 3. Índices nutricionales y actividad fagodisuasiva en larvas de *T. castaneum* de los extractos hexánico y etanólico de *A. polystachya*.

Extracto	Concentración (mg/disco)	TCR ¹ (mg/mg/d)	TRC ² (mg/mg/d)	ECAI ³ (%)	IF ⁴ (%)
Etanol	0	0.456a	0.653a	75.32a	
	0.75	0.411a	0.395a	182.5a	-7.61
	1.5	0.387a	0.584a	67.59a	-10
	3	0.373a	0.652a	60.20a	26.14
	6	0.39a	0.607a	64.15a	40.92
Hexano	0	0.414c	0.528b	77.9a	
	0.75	0.405c	0.55b	80.14a	6.46
	1.5	0.384bc	0.57b	69.19a	-46.15
	3	0.341ab	0.48b	71.45a	2.83
	6	0.296a	0.304a	102.39a	33.06

1: Tasa de Crecimiento Relativo; 2: Tasa Relativa de Consumo; 3: Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido; 4: Índice Fagodisuasivo. Distintas letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos y para cada extracto según ANOVA y DMS.

Cuadro 4. Índices nutricionales y actividad fagodisuasiva en adultos de *T. castaneum* de los extractos hexánico y etanólico de *A. polystachya*.

Extracto	Concentración (mg/disco)	TCR ¹ (mg/mg/d)	TRC ² (mg/mg/d)	ECAI ³ (%)	IF ⁴ (%)
Etanol	0	0.421a	0.366b	117.58a	
	0.75	0.361a	0.213a	176.92a	38.30
	1.5	0.355a	0.311b	118.47a	-11.11
	3	0.334a	0.181a	192.25a	48.58
	6	0.31a	0.163a	271.46a	49.58
Hexano	0	0.355a	0.297ab	124.8a	
	0.75	0.337a	0.251a	166.6b	16.74
	1.5	0.326a	0.261a	109.72a	-28.57
	3	0.334a	0.279a	119.7a	10.19
	6	0.334a	0.358b	94.87a	-23.13

1: Tasa de Crecimiento Relativo; 2: Tasa Relativa de Consumo; 3: Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido; 4: Índice Fagodisuasivo. Distintas letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos y para cada extracto según ANOVA y DMS.

las concentraciones de 3 y 6 mg/disco y la TRC a la mayor concentración evaluada (Cuadro 3). En cuanto a los adultos, el extracto etanólico produjo reducción de la TRC a las concentraciones de 0,75; 3 y 6 mg/disco (Cuadro 4).

Se registró actividad fumigante en larvas con el extracto etanólico de hojas de *A. polystachya* a la mayor dosis, obteniéndose

un porcentaje de mortalidad del 67% (cuadro 5). En adultos ninguno de los extractos produjo toxicidad (Cuadro 6). Esto último estaría indicando que los adultos de *T. castaneum* son más tolerantes a estos productos y en consecuencia se requerían mayores concentraciones para lograr mortalidad o bien tiempos de exposición más prolongados. Una situación de este tipo fue observa-

Cuadro 5. Actividad fumigante en larvas de *T. castaneum* de los extractos hexánico y etanólico de hojas *A. polystachya*

Extracto	Concentración mg litro ⁻¹ air	Mortalidad %
Etanol	7.5	0
	30	6.6
	60	66.6
Hexano	7.5	10
	30	6.6
	60	10

Cuadro 6. Actividad fumigante en adultos de *T. castaneum* de los extractos hexánico y etanólico de hojas *A. polystachya*

Extracto	Concentración mg litro ⁻¹ air	Mortalidad %
Etanol	7.5	0
	30	3.3
	60	3.3
Hexano	7.5	0
	30	6.6
	60	6.6

da por Saraç y Tunç (1995), al evaluar el efecto de los vapores de diferentes aceites esenciales de semillas y frutos de distintas plantas en *T. confusum*. Por otra parte, TRIPATHI *et al.* (2003) analizando la actividad fumigante del d-limoneno, componente mayoritario de *Citrus sinensis*, en larvas y adultos de *T. castaneum*, observaron que en los adultos, se requerían mayores concentraciones del producto para lograr similar toxicidad.

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que los extractos hexánicos y etanólicos de hojas de *A. polystachya* podrían ser utilizados como una alternativa de

control dentro de un programa de manejo integrado de plagas de grano almacenado.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SeCyT) de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina (PGI: 24/B109), a la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica (ANCYT-PICTO-BID 1728/ OC-AR-PICT N° 925) por los subsidios otorgados, al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por su becaria Natalia Stefanazzi.

ABSTRACT

GUTIERREZ, F. S., N. STEFANAZZI, A. P. MURRAY, A. A. FERRERO. 2008. Biological activity of hexanic and ethanolic extracts of *Aloysia polystachya* (Verbenaceae) against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 501-508.

Repellent, nutritional indices and feeding deterrent, and fumigant effect, of ethanolic and hexanic extracts from leaves of *Aloysia polystachya* were evaluated against *Tribolium castaneum* Herbst larvae and adults.

Repellent activity was evaluated at twenty four hours in larvae. The Repellence Index (RI) increased with concentration with both extracts. On adults, the extracts showed a stronger repellence activity to all concentration. Bioassays of Nutritional indices demonstrated that both extracts had a weaker feeding deterrent action against *T. castaneum* larvae and adults. The hexanic extract reduced the growth rate at 3 and 6 mg/disk and the relative consumption rate at 6 mg/disk on larvae. The ethanolic extract reduced the relative consumption rate at 0.75, 3 and 6 mg/disk on adults. Fumigant toxicity was observed only with ethanolic extract at 60 mg litro⁻¹air on larvae.

Key words: red flour beetle, repellency nutritional indices and feeding deterrence, fumigant toxicity.

REFERENCIAS

- BABA TIERTO, N. 1992. "The ability of powders and slurries from ten plants species to protect stored grain from attack by *Prostephanus truncatus* Horn and *Sitophilus oryzae* L. (Col., Curculionidae)." *Journal of Stored Products Research*, **30**:297-301.
- CASAFE. 2004. Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. CASAFE. Bs As. Argentina.
- DANIEWSKI, W. M., SKIBICKI, P., GUMULKA, M., DROZDZ, B., GRABARCZYK, H., BŁOSZYK, E. 1988. "Sesquiterpene lactones. XXXV. Constituents of *Reichardia tingitana* L. Roth. and their antifeedant activity." *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, **57**: 539-545.
- DE OLIVEIRA PROCÓPIO, S., DJAIR VENDRAMIM, J. D., RIBEIRO JÚNIOR, J. I., BARBOSA DOS SANTOS, J. 2003. "Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* MOTS. (Coleoptera: Curculionidae)." *Ciência e Agrotecnologia, Lavras*, **27** (6): 1231-1236.
- DESCAMPS, L. R., REVIRIEGO, M. E., SUAREZ, A. A., FERRERO, A. A. 2004. "Reproducción de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) y de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) en cultivos de trigo argentinos." *Bol. San. Veget. Plagas*, **30**: 171-175.
- GONZALEZ TORRES, D. M. 1996. "Catalogo de Plantas Medicinales y Alimenticias y Útiles usadas en Paraguay." El País, Asunción, Reimpresión.
- HASSANALI, A., LWANDE, W., OLE-SITAYO, N., MOREKA, L., NOKOE, S., CHAPYA, A. 1990. "Weevil repellent constituents of *Ocimum suave* leaves and *Eugenia caryophyllata* cloves used as grain protectant in parts of eastern africa." *Discovery and Innovations*, **2**: 91-95.
- HERNÁNDEZ, M. M., HERASO, C., VILLARREAL, M. L., VARGAS-ARISPURO, I., ARANDA, E. 1999. Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **67**: 37-44
- HO, S. H., MA, Y., TAN, H. T. W. 1997. "Repellency of some plant extracts to the stored products beetles *Tribolium castaneum* (Herbst.) and *Sitophilus zeamais* Motsch." *BIOTROP, Special Publication*, **59**: 209-215.
- HUANG, Y., LAM, S. L., S. HO, H. 2000. "Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst)." *Journal of Stored Products Research*, **36** (2): 107-117.
- LIU, Z. L., GOH, S. H., HO, S. H. 2007. "Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst)." *Journal of Stored Products Research*, **43**: 290-296.
- MARTÍNEZ CROVETO, R. 1981. "Plantas utilizadas en medicina popular en el Noroeste de Corriente." Tucumán, Argentina, Ministerio de Cultura y Educación. *Fundación Miguel Lillo* **69** (89): 113-139.
- MORA, S., DIAZ-VELIZ, G., MILLAN, R., LUNGENSTRASS, S., QUIROS, S., COTO-MORALES, T., HELLION-IBARROLA, M. C. 2005. "Anxiolytic and antidepressant-like effects of the hydroalcoholic extract from *Aloysia polystachya* in rats." *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **82**:3 73-378.
- NOVO, R. J., VIGLIANCO, A., NASSETTA, M. 1997. "Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst)." *Agriscientia*, **14**: 31-36.
- OMAR, S., MARCOTTE, M., FIELDS, P., SANCHEZ, P. E., POVEDA, L., MATA, R., JIMÉNEZ, A., DURST, T., ZHANG, J., MACKINNON, S., LEAMAN, D., ARNASON, J. T., PHILOGENE, B. J. R. 2007. "Antifeedant activities of terpenoids isolated from tropical Rutales." *Journal of Stored Products Research*, **43**: 92-96.
- PARH, I. A., FORBUZO, B. C., MATHENEY, E. L., AYAFOR, J. F. 1998. "Plants used for the control of insect pests on stored grains in parts of North West Highland Savana zone of Cameroon." *Sciences Agronomiques et Développement*, **1**: 54-60.
- PASCUAL VILLALOBOS, M. J. 1998. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bol. San. Veget. Plagas*, **24**: 143-154.
- PASCUAL VILLALOBOS, M. J., ROBLEDO, A. 1998. "Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants." *Industrial Crops and Products* **8** (3):183-194.

- PASCUAL-VILLALOBOS, M. J., ROBLEDO, A. 1999. "Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain." *Biochemical Systematics and Ecology*, **27** (1): 1-10.
- POSWAL, M. A. T., AKPA, A. D. 1991. "Current trends in the use of tradicional and organic methods for the control of crop pests and diseases in nigerian." *Tropical Pest Management*, **37**: 329-333.
- SARAÇ, A., TUNC, I. 1995. "Toxicity of essential oil vapours to stored product insects." *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, : 69-74.
- TRIPATHI, A. K., PRAJAPATI, V., VERMA, N., BAHL, J. R., KUMAR, S. P. S., BANSAL, S., KHANUJAS, R. P. 2002. "Bioactivities of the Leaf Essential Oil of *Curcuma Longa* (Var. Ch-66) On Three Species of Stored-Product Beetles (Coleoptera)." *Journal of Economic Entomology*, **91** (1): 183-189.
- TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; PREET, S.; KHANUJA, S., KUMAR, S. 2003. Effect of d-limonene on three species of stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, **96**: 990-995.
- ZAR, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 4th Ed.

(Recepción: 10 abril 2008)

(Aceptación: 12 agosto 2008)