

**UCLV**  
Universidad Central  
"Marta Abreu" de Las Villas



**FQF**  
Facultad de  
Química y Farmacia

## TRABAJO DE DIPLOMA

**Estudio de la composición química de productos seleccionados de plantas de la familia *Myrtaceae* con actividad insecticida sobre *Sitophilus oryzae* L.**

**Autor: Michael Madruga Suárez**

**Tutores: Dr. C. José Orestes Guerra de León**

**M. Sc. Yhosvanny Pérez Rodríguez**

# *Pensamiento*

*La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡Qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste*

*Marie Curie*

# *Dedicatoria*

*A la memoria de mi abuelo*

## *Agradecimientos*

*Me gustaría destacar lo difícil que puede resultar escribir esta parte, ya que la realización de este trabajo ha implicado a muchas personas de manera directa así como de un modo más indirecto.*

*En primer lugar a mi madre Rita M. Suárez Gil, por su amor, apoyo incondicional y sobre todo por desgastar su vida en favor de la mía.*

*A mi padre Rogelio A. Madruga Rodríguez, sin su ayuda económica hubiese sido imposible transitar todos estos años de Universidad.*

*A mi hermana Angélica M. Martínez Suárez, por su cariño sincero y los años compartidos.*

*Al Viti, por su preocupación y por ser el apoyo principal de mi madre en los tiempos grises de intranquilidad y desvelo.*

*A Ibis, por apoyarme y estar siempre para mi padre.*

*A mis abuelos Tuto y Justina, por su preocupación y cariño incondicional.*

*A mi abuela Rosario que dios la tenga en su gloria, aunque no estuvo presente en el transcurso de estos años, sé que hubiese estado muy orgullosa.*

*A Tití, por su amor, ayuda y comprensión, sobre todo en los días más difíciles.*

*A mi amigo Ariel, por siempre estar presente y ayudarme a no rendirme.*

*A mis tutores, Dr. José Orestes Guerra de León y M. Sc. Yhosvanni Pérez Rodríguez, por sus conocimientos y empeño en la culminación de este estudio.*

*A Pepito, por su aporte desinteresado en la culminación del trabajo.*

*A Nancy, Neibis y Nany, por ayudarme cuando más lo necesité.*

*A Surey, Mixary y Pedro eternamente agradecido por su preocupación y su amistad.*

*A todas mis amistades, no los menciono para que no se vaya a quedar nadie fuera.*

*A Julito el botánico, por la ayuda en la recolección de las plantas.*

*A todas las personas en la UCLV que de una forma u otra me ayudaron y apoyaron en el transcurso de este tiempo; pero sobre todo, a todas aquellas que dudaron siempre, a todos en especial, muchas gracias.*

## RESUMEN

La utilización de polvos, extractos y aceites esenciales, para combatir plagas de almacén como *Sitophilus oryzae* L que es el causante de la mayor parte de las pérdidas de los cereales almacenados como el maíz, resulta una alternativa eficaz, económica y de menor impacto ambiental que la utilización de compuestos químicos sintéticos. Como antecedentes a este trabajo se tomaron diez especies de plantas de la familia *Myrtaceae* reconocidas a nivel mundial por sus propiedades y utilización para el control de insectos plagas, de las cuales *Callistemon Citrinus*, *Pimenta Dioica* y *Syzygium Malaccense* resultaron las de mejor actividad insecticida sobre *S. oryzae* L., siendo estas la base del presente trabajo. Para la obtención de los aceites esenciales nos auxiliamos del método Hidrodestilación y para los extractos, fueron el Soxhlet, Maceración y Extracción Asistida por Ultrasonido utilizando además n-hexano, acetato de etilo y metanol como solventes para un total de 27 muestras. Las seis mejores muestras y los dos aceites fueron caracterizados mediante CG-EM y para este trabajo nos centraremos en los aceites y los extractos SUM, SMAE y PMH. Los aceites de *C. Citrinus* y *P Dioica* presentaron un rendimiento de 1,01 y 0,99 % respectivamente y de la caracterización cromatográfica se obtuvieron compuestos como eugenol, 1,8-cineol, cariofileno, linalool, terpineol y  $\alpha$ -pineno para los aceites y 1-metoxiciclohexeno, 1,1-dimetoxiciclohexano, 5-hidroximetil-2-furancarboxaldehído, Z,Z-ácido-9,12-octadecadienoico, trans-escualeno, eugenol,  $\alpha$ -cadinol, nonacosano y lupeol, siendo estos los más representativos.

## ABSTRAC

The use of powders, extracts and essential oils, to combat warehouse plagues like *Sitophilus oryzae* L that is the causing one of most of the losses of the cereals stored as the corn, are an effective, economic alternative and of smaller environmental impact that the use of synthetic chemical compounds. As antecedents to this work took ten species of plants of the family grateful Myrtaceae at world level for their properties and use for the control of insects plagues, of those which *Callistemon Citrinus*, *Pimenta Dioica* and *Syzygium Malaccense* was those of better insecticide activity on *S. oryzae* L., being these the base of the present work. For the obtaining of the essential oils we aid ourselves of the method Hidrodestilation and for the extracts, they were the Soxhlet, Maceration and Attended Extraction for Ultrasonide also using n-hexane, ethyl acetate and methanol like pay for a total of 27 samples. The six better samples and the two oils were characterized by means of CG-EM and for this work we will center ourselves in the oils and the extracts SUM, SMAE and PMH. The oils of *C. Citrinus* and *P Dioica* presented a yield of 1,01 and 0,99% respectively and of the characterization cromatográfica they were obtained compound as eugenol, 1,8-cineol, cariofileno, linalool, terpineol and  $\alpha$ -pineno for the oils and 1-methoxycyclohexene, 1,1-dimethoxycyclohexane, 5-hidroximetil-2-furancarboxaldehide, Z,Z-acid-9,12-octadecadienoic, trans-escualeno, eugenol,  $\alpha$ -cadinol, nonacosane and lupeol, being these the most representative.

# Índice

RESUMEN.....	6
ABSTRAC.....	7
INTRODUCCIÓN .....	10
<b>I: REVISION BIBLIOGRAFICA .....</b>	<b>15</b>
1.1 Antecedentes .....	15
1.2 <i>Myrtaceae</i> .....	16
<b>1.2.1 <i>Callistemon citrinus</i> .....</b>	<b>17</b>
<b>1.2.2 <i>Syzygium Malaccense</i> .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2.3 <i>Pimenta dioica</i> .....</b>	<b>20</b>
1.3 Aceites esenciales .....	21
1.4 Polvos vegetales.....	23
1.5 Insectos que provocan estas pérdidas.....	23
1.6 <i>Sitophilus oryzae</i> : biología y reproducción.....	24
<b>1.6.1 Daño.....</b>	<b>25</b>
<b>1.6.2 Medios de control.....</b>	<b>26</b>
1.7 Técnicas para la determinación de aceites esenciales y extractos.....	28
<b>II: MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>31</b>
2.1 Materiales, equipos y reactivos utilizados.....	31
2.2 Obtención de extractos y aceites esenciales.....	31
<b>2.2.1 Selección y preparación del material vegetal.....</b>	<b>31</b>
<b>2.2.2 Métodos utilizados.....</b>	<b>33</b>
<b>2.2.3 Obtención de aceites esenciales por Hidrodestilación.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2.4 Análisis cromatográfico mediante CG-EM.....</b>	<b>34</b>
<b>III: ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS .....</b>	<b>37</b>
3.1 Obtención de los aceites esenciales y sus características .....	37
3.2 Obtención de los extractos y sus características.....	38
3.3 Determinación de propiedades físicas y químicas .....	41
<b>3.3.1 Determinación de propiedades físicas de los aceites esenciales de hojas de <i>Callistemon Citrinus</i> y <i>Pimenta Dioica</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>3.3.2 Determinación cualitativa de metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico presentes en extractos obtenidos .....</b>	<b>42</b>

3.4 Caracterización química de los aceites esenciales y extractos obtenidos de las especies más efectivas sobre <i>S. oryzae</i> L. mediante CG-EM.....	44
<b>3.4.1 Caracterización química del aceite esencial de <i>P. dioica</i></b> .....	44
<b>3.4.2 Caracterización química del aceite esencial de <i>C. citrinus</i></b> .....	46
<b>3.4.3 Caracterización química de los metabolitos presentes en el extracto SUM</b> .....	48
<b>3.4.4 Caracterización química de los metabolitos presentes en el extracto SMAE</b> .....	50
<b>3.4.5 Caracterización química de los metabolitos presentes en el extracto PMH</b> .....	53
<b>CONCLUSIONES</b> .....	57
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	59

## **INTRODUCCIÓN**

La necesidad de eliminar los productos químicos en el control de plagas en los granos almacenados y fortalecer la búsqueda de alternativas ecológicas para dicho control, en la actualidad ha cobrado gran auge. Las plantas utilizadas como fitoplaguicida son convenientes para proteger productos almacenados del ataque de insectos plaga, al ser menos tóxicas que los insecticidas químicos y fácilmente biodegradables (Isman, 2006).

Existen plantas de diferentes familias que contienen compuestos químicos que resultan ser una excelente fuente de productos naturales biológicamente activos (Isman, 2000); (Clemente, 2003), ya que producen más de 100 000 sustancias de bajo peso molecular conocidas como metabolitos secundarios.

Son cuantiosas las prácticas que han sido desarrolladas por numerosos productores con el fin de mezclar materiales de plantas nativas y granos para proteger a éstos durante el almacenamiento, pero de estas prácticas, la más explorada como alternativa accesible ha sido la aplicación de polvos vegetales (Midega, 2016). Muchos de estos productos demuestran actividad como insecticida y tienen efectos protectores tan variados que van desde repelencia (García, 2005), inhibición de la alimentación, toxicidad aguda e interferencia con el crecimiento y desarrollo (Barra, 2007). Estudios anteriores señalan que los polvos con partículas menores de 1 mm alteran el desarrollo de estos insectos, pero se desconoce cuáles de estos metabolitos secundarios así como su concentración pueden provocar tal efecto (Barbosa, 2005).

Los productos alimenticios almacenados experimentan períodos variables que dependen de la demanda del mercado, el volumen de la cosecha y las necesidades del productor, de ahí la importancia del almacenaje. Una de las principales preocupaciones durante este

período es la existencia de factores que deterioran los granos, lo que provoca variaciones negativas en la cantidad y calidad del producto durante el mismo (Bayer, 2014).

En esta etapa las afectaciones oscilan entre el 5 y el 30 % del peso total de los granos y dentro de este, cerca del 10 % se deben al ataque de insectos plagas, que pueden alcanzar porcentajes superiores en regiones tropicales y subtropicales donde las temperaturas y humedad relativa favorecen el desarrollo de los insectos capaces de alimentarse de las semillas y ocasionar pérdidas en la calidad de las mismas, a la vez que afectan el poder germinativo de estas (Casini, 2014); (Zunjare, 2016).

Entre las principales especies insectiles ampliamente distribuidas por el mundo con alto poder destructivo que atacan los granos se encuentran las pertenecientes al género *Sitophilus*. Por su importancia económica se destacan *S. zeamais* y *S. oryzae*, responsables de las infestaciones que preceden a la cosecha, favorecido por la tendencia que poseen los adultos a volar (Fleitas, 2007). Estas especies afectan granos de arroz, trigo y maíz, donde causan pérdidas considerables (Tilahun, 2014); (Saad, 2018); (Wu, 2018). *S. oryzae*, se considera una plaga primaria que reduce la cantidad, calidad, valor nutritivo y viabilidad de los granos (Ekeh, 2018). (Tefera, 2012) plantea que tanto larvas como adultos destruyen la viabilidad de las semillas y reducen la capacidad de germinación de las mismas. Según (Feitó, 2015) fue reportada la incidencia de *S. oryzae* en los silos metálicos de Cienfuegos, Cuba, al provocar afectaciones al maíz, donde la infestación imposibilitó el consumo humano del grano.

Para su control se han utilizado plaguicidas químicos de síntesis que han ocupado un lugar preferencial desde mitad del siglo XX, sin embargo su uso continuo y discriminado

ha tenido un negativo impacto ambiental, incluyendo pérdidas de calidad de las aguas, contaminación del hábitat natural, resistencia de las especies que eran el objeto de control (Bourguet, 2000); (Bouvier, 2001) junto con problemas de seguridad y exposición del consumidor a los residuos de pesticidas en el alimento, en el aire y en el suelo. A lo largo de la historia de la humanidad, se han utilizado principios activos o extractos procedentes de las plantas como insecticidas, aún sin saber cuáles eran los compuestos responsables que tenían estas propiedades. Durante mucho tiempo, estos jugaron un papel importante en la actividad agrícola y fueron la base de antiguas observaciones que estructuraron las disciplinas derivadas de la biología (Regnault-Roger, 2004). Hoy en día, la pérdida de las cosechas y de la calidad por la acción de las plagas de insectos sigue siendo uno de los principales problemas con los que se encuentra la agricultura mundial. Todo esto nos plantea la necesidad de desarrollar nuevos métodos y estrategias para el control de plagas que permitan mantener los rendimientos de producción, que no conlleven un elevado costo medioambiental y que sean compatibles con una agricultura sostenible.

En Cuba se han evaluado especies botánicas con actividad fitoplaguicida para la síntesis de insecticidas menos tóxicos al entorno, entre dichas especies podemos encontrar plantas de la familia *Myrtaceae*, las cuáles poseen importantes volúmenes de aceites esenciales (Pino, 2013). La actividad insecticida de las *Myrtaceae* se describe como una alternativa viable al control de varias plagas como un camino ecológico (Lee, 2004). Sin embargo, no se ha informado la actividad biológica que ejercen estas plantas sobre *S. oryzae* durante el almacenamiento de granos pese a que esta familia agrupa gran cantidad de especies.

Teniendo en cuenta estos antecedentes y que hasta el momento no han sido logrados en el país estudios relacionados con la actividad biológica que poseen diversas especies de dicha familia sobre *S. oryzae*, es necesario realizar investigaciones encaminadas a utilizar las mismas como alternativas para el control del insecto, sin afectar la capacidad de germinación de las semillas almacenadas.

Después de lo anterior expuesto nos planteamos la siguiente **situación problemática**: Los extractos vegetales y aceites esenciales de las especies botánicas *Callistemon Citrinus*, *Pimenta Dioica* y *Syzygium Malaccense*, tienen actividad insecticida sobre *Sitophilus oryzae* L., pero se desconoce cuáles metabolitos secundarios presentes en sus hojas pueden provocar tal efecto, así como sus propiedades físicas y químicas.

**Objetivo General:**

Evaluar la composición química de productos seleccionados de plantas de la familia *Myrtaceae* con actividad insecticida sobre *Sitophilus oryzae* L.

**Objetivos específicos:**

- 1- Obtener extractos de diferente polaridad y aceites esenciales de las especies *Callistemon Citrinus*, *Pimenta Dioica* y *Syzygium Malaccense* con actividad insecticida sobre *Sitophilus oryzae* L.
- 2- Determinar propiedades físicas y químicas de los productos obtenidos.
- 3- Identificar mediante el empleo de CG-EM los principales metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales y extractos obtenidos.

# I: Revisión bibliográfica

## I: REVISION BIBLIOGRAFICA

### 1.1 Antecedentes

Para la presente investigación, primero se llevó a cabo una recopilación de información por parte de todos los integrantes del proyecto investigativo “Selección de agentes bioactivos promisorios de las familias *Agavaceae* y *Myrtaceae* como alternativas para el manejo de insectos y moluscos plagas”, en disímiles artículos y tesis doctorales. Los especímenes seleccionados para realizar la recolecta del material vegetal, todas pertenecen a la familia *Myrtaceae*. Esta familia fue escogida por agrupar árboles y arbustos ricos en aceites esenciales que han sido tradicionalmente utilizados por productores de la provincia de Cienfuegos como alternativas ecológicas en el control de insectos plagas, además de encontrarse en abundancia en la región central de Cuba y su colecta no presente un problema para la extinción de las mismas; entre las más utilizadas se encuentran las relacionadas a continuación:

**Tabla 1: Nombres de las especies botánicas de la familia *Myrtaceae* utilizadas**

<b>Nombres científicos</b>	<b>Nombre vulgar</b>	<b>Sinonimia*</b>
<i>Psidium friedrichsthalium</i> Niedenzu	<i>Guayaba ácida</i>	<i>Calyptropsidium friedrichsthalianum</i> Berg
<i>Psidium cattleianum</i> Sabine. <i>longipes</i> (O. Berg) Fosberg	<i>Guayabita cereza</i> <i>Guayabita fresa</i>	<i>Psidium littorale</i> Raddi var. <i>longipes</i> (O. Berg) Fosberg = <i>Psidium cattleianum</i> Sabine
<i>Pimenta dioca</i> (L.) Merr	<i>Pimenta de Jamaica</i> <i>Pimenta gorda</i>	<i>Pimenta officinalis</i> Lindl.
<i>Callistemon citrinus</i> (Curtis) Skeels	<i>Callistemon</i>	<i>Callistemon lanceolatus</i> DC.
<i>Eugenia foetida</i> Pers	<i>Guayraje</i>	<i>Eugenia buxifolia</i> (Sw.)

		Willd
<i>Callistemon speciosus</i> DC.	<i>Callistemon</i>	
<i>Eugenia asperifolia</i> O. Berg	<i>Guayraje</i>	<i>Eugenia microphylla</i> A. Rich.
<i>Syzygium jambos</i> . L. (Alston).	<i>Pomarrosa</i>	<i>Eugenia jambos</i> L.
<i>Eugenia uniflora</i> L.	<i>Cerezo de Cayena</i> <i>Cerezo de Surinam</i>	<i>Eugenia pseudopsidium</i> sensu O. Berg O. Berg
<i>Syzygium malaccense</i> (L.) Merr. & L.M. Perry	Pomarrosa de malaca	<i>Eugenia malaccense</i> L.

Sinonimia\* (Acevedo, 2012).

A partir de los polvos de las hojas de las plantas anteriormente seleccionadas, *Callistemon Citrinus*, *Pimenta Dioica* y *Syzygium Malaccense* fueron las de mejor actividad insecticida frente a *S. oryzae* haciendo que este no se acercara a los granos y le causara la muerte posteriormente; aunque son insuficientes los basamentos científicos sobre los efectos insecticidas que poseen estas especies (Ortega, 2016).

## 1.2 Myrtaceae

La familia *Myrtaceae* cuenta con 144 géneros y aproximadamente 5 500 especies, distribuidas en su mayoría en regiones tropicales, subtropicales y zonas templadas de Australia (Aleksic, 2014); (Fig. 1). La primera contribución al conocimiento de las *Myrtaceae* fue hecha por (Linnaeus, 1753), al describir las especies hasta el momento conocidas en los géneros *Eugenia*, *Psidium*, *Myrtus* y *Plinia*.



Fig. 1: Localización geográfica de las plantas de la familia *Myrtaceae*.

Entre los géneros más abundantes de esta familia, referenciadas por el uso con diversos fines, se encuentra el *Callistemon* y una de sus especies más conocidas es el *C. Citrinus* descrita a continuación:

### **1.2.1 *Callistemon citrinus***

También conocido con el nombre común de árbol del cepillo o escobillón rojo, puede alcanzar entre 1 y 3 m de altura con hojas de 3 a 7 cm de largo y 5 a 8 mm de ancho. Las espigas de flores alcanzan los 6 a 10 cm de longitud por 4 a 7 cm de diámetro. La venación de las hojas es claramente visible en ambos lados. Crecen principalmente a lo largo de arroyos y sus flores son de color rojo, rojo-purpura o lila (Nooshin Zandi-Sohani, 2015), siendo espectaculares y muy atractivas a las aves, además su néctar sirve para alimentar a los insectos. Este arbusto se ha convertido en una planta de jardinería muy popular por su resistencia y la poca necesidad de cuidados. También constituye una barrera contra el viento en áreas casi costeras y compone una fuente de alimento para la flora y la fauna del lugar. Aunque esta planta prefiere el sol se adapta perfectamente

tanto a condiciones húmedas como a los períodos de sequía. Debido a su gran resistencia, son recomendables para la reforestación de zonas industrializadas por su capacidad de resistir altos niveles de emisión (Fig. 2; 3; 4).



Fig. 2; 3; 4: Planta *Callistemon Citrinus*

Entre los principales componentes de esta planta podemos encontrar metabolitos secundarios como  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -terpineol y 1,8-cineol, siendo este último el más abundante y un monoterpeno con varios efectos farmacológicos y muy utilizado por la medicina (Kumar, 2018); (Nooshin Zandi-Sohani, 2015). Además esta especie vegetal ha sido identificada por su actividad antimicrobial, citotóxica, larvicida y nematicida (Shrestha, 2015), mientras que la actividad insecticida ha sido confirmada en estudios realizados sobre *Chilo auricilius* Dudgeon (Lepidóptera: Crambidae) (Mumtaz, 2013).

### 1.2.2 *Syzygium Malaccense*

Comúnmente conocida como manzana de agua, es una especie de árbol perteneciente a la familia de las mirtáceas, género *Syzygium* y su nombre genérico es la combinación de los términos griegos “sys” - juntos y “zygon” - yugo, con referencia a

los pétalos unidos en algunas especies; el término de la especie en latín hace referencia a uno de los lugares de origen, la Malacca estado de Malasia, encontrándose también en algunos países de Centroamérica y Suramérica. Abundante en Cuba e informada como una especie invasora (Oviedo. P, 2015). Esta planta es un árbol vistoso, siempreverde, con tronco erecto hasta cerca 16 m de altura, que siendo cultivado se mantiene más bajo, tiene 40 cm de diámetro, con copa alargada y poco expandida. Las hojas son simples, opuestas de 12 a 25 cm de largo y 6 a 12 cm de ancho, de color verde intenso brillante superiormente, verde claro inferiormente. Las inflorescencias, que nacen directamente sobre el tronco o sobre ramas viejas sin hojas, son cimas que no superan los 6 cm de largo llevando de 2 a 12 flores con 4 pétalos de color rojo o rosa, raramente blanco, de 0,6 a 1 cm de largo y una multitud, hasta más de 100 estambres largos de color rojo, que son la parte más vistosa de la flor. Los frutos son bayas carnosas largas de 4 a 8 cm, de color rojo, a veces blanco, con estrías rojas, brillantes, conteniendo una sola semilla globosa, o raramente dos, hasta de 2 cm de diámetro de color marrón claro. Se reproduce por semilla, que debe ser sembrada lo antes posible, mantenido húmedo el suelo a una temperatura de 22-24°C, la germinación tiene lugar en aproximadamente un mes, la floración luego de 7 o 8 años de la siembra. La planta tiene valor ornamental, por el follaje, la floración y los brillantes y coloridos frutos, y a veces es utilizada como árbol de sombra en los parques y en las orillas de las calles. No es extensamente cultivada para la producción de frutos, cuya pulpa blanca es jugosa y considerada para muchos más bien insípida, que igualmente es consumida sólo localmente por su elevado deterioro. Sousa de Alencar Silva y Karioti se refieren a sus propiedades insecticidas e identificaron entre los principales componentes del aceite esencial de hojas frescas los

compuestos pineno,  $\beta$ -pineno, p-cimeno,  $\alpha$ -terpineol y cariofileno (Sousa de Alencar Silva, 2017); (Karioti, 2007), además de reportar actividad citotóxica de los polvos de las hojas (Savitha, 2011); (Fig. 5; 6).



Fig. 5; 6: Planta *Syzygium Malaccense*

### **1.2.3 *Pimenta dioica***

La *Pimenta dioica* es una *Myrtaceae* neotropical de distribución mesoamericana y caribeña. Llega a medir 25 m de altura y 40 cm de diámetro, la corteza externa es lisa y muy olorosa, sus hojas son de color verde oscuro y brillante en el haz, verde-pálido o amarillento en el envés, de 7 a 22 cm de largo y 2,5 a 9 cm de ancho. En Cuba se han realizado estudios sobre la multiplicación vegetativa de esta especie, aun cuando la germinación por semillas es posible cuando son sembradas inmediatamente después de ser cosechados los frutos maduros (Fuentes Fiallo, 2000). La composición química de la pimenta es la siguiente: humedad 13 %, aceites esenciales de 3 a 4,5 %, taninos 8 % y fibra cruda 25 % (Cosio, 1984), además tiene como compuestos mayoritarios eugenol, metoxieugenol, cariofileno y 1,8 cineol. Las plantas de este género presentan un amplio abanico de usos, en el campo medicinal se ha usado como anestésico, carminativo, estimulante, aromático, antidiarreico y antidisentérico; desde el punto de vista

farmacológico muestra una notable actividad antifúngica y antioxidante. Esta planta tiene un gran empleo en la alimentación para la preparación de salsas, adobos y conservas de carnes, aunque la utilización más extendida es como condimento, para lo que se usan los frutos desecados, ya que reúnen las características de aroma y sabor a canela, clavo y nuez moscada, por lo que en inglés se conoce como *allspice* y se trata de un producto del mercado nacional mexicano que también se exporta a Alemania, Estados Unidos, Jamaica y Reino Unido (Barco, 1998); (Fig. 7; 8).



Fig. 7; 8: Planta *Pimenta dioica*

### **1.3 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas (Martínez, 2003). Los constituyentes de los aceites esenciales pertenecen principalmente a dos grupos fitoquímicos: terpenoides y, en menor medida fenilpropanoides (Trampe, 2017). Algunos de sus componentes mayoritarios resultan

tóxicos para insectos a través del contacto directo o del ingreso al organismo por vía respiratoria y permiten reducir la excesiva dependencia a los plaguicidas químicos, además de contribuir a la protección del medio ambiente y disminuir los riesgos a la salud humana (Nenaah, 2014). La esencia se encuentra en todos los órganos (flores, raíces, frutos, leños, hojas, semillas) y su composición puede variar de acuerdo a la época de la recolección, el lugar geográfico o pequeños cambios genéticos. Además, son sustancias químicas que ejercen las funciones de auto-defensa y de atracción de polinizadores (Minami, 1999).

Aceites esenciales donde el compuesto mayoritario es eugenol han sido evaluados sobre *S. oryzae* por su efecto repelente e inhibidor de la ovoposición y la inhibición de la encima acetilcolinesterasa (M., 2016). Por otro lado, muchos aceites han resultado ser efectivos por su acción repelente (Nattudurai, 2017); (Fernández-Ruiz, 2018), esta acción permite definirlos como potenciales reemplazantes de los dos fumigantes más utilizados (fosfamina y bromuro de metilo) en el control de plagas de almacén (Shaaya, 2007).

La actividad insecticida de compuestos presentes en diferentes especies botánica de la familia *Myrtaceae* ha sido referida por (Jiang, 2013) al describir el efecto tóxico y fumigante de terpine-4-ol y eugenol. Otros compuestos como 1,8 cineol, isoeugenol y metileugenol han sido identificados por su misma actividad insecticida sobre diferentes especies de plagas (Shrestha, 2015); (Brari, 2015), además de tener el potencial de servir para la producción de futuros insecticidas botánicos, por la toxicidad a insectos (Isman, 2020).

#### **1.4 Polvos vegetales**

Los compuestos naturales, en general, tienen un efecto protector debido principalmente a la repelencia; además, afectan la alimentación, ovoposición y el crecimiento de los insectos. Son cuantiosas las prácticas que han sido desarrolladas por numerosos productores con el fin de mezclar materiales de plantas nativas y granos para proteger a éstos durante el almacenamiento, pero de estas prácticas, las más exploradas como alternativas accesibles han sido la aplicación de polvos vegetales (Midega, 2016).

En algunos países de América Latina refieren a los polvos obtenidos de especies botánicas como alternativas capaces de provocar menor impacto ambiental para el control de insectos plagas de almacén ya que son de bajo riesgo y fácil acceso para todos (Torres. C, 2015).

Los polvos con partículas menores de 1 mm alteran el desarrollo de los gorgojos, pero no definen el efecto que ejercen sobre los insectos los componentes volátiles que se liberan a medida que se descompone el residuo vegetal (Barbosa, 2005).

#### **1.5 Insectos que provocan estas pérdidas**

En Cuba, los insectos que se alimentan del grano almacenado, representan el 28,6 %, pertenecientes a los órdenes Lepidóptera y Coleóptera principalmente, entre los que se encuentran *Caulophilus oryzae* (Gyllenhal), *Sitotroga cerealella* (Olivier), *Cadra cautella* (Walker), *Corcyra cephalonica* (Stainton), *Ephestia calidella* (Guenée), *Plodia interpunctella* (Hübner) que provocan daños a estos granos (Vázquez, 2010).

En el orden Coleóptera se informan *Rhizoperha dominica* (Fabricius), *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus), y *S. zeamais* (Motshulsky), al igual que *S. oryzae*, causan

afectaciones en granos de maíz almacenados. Dentro de estas especies insectiles mencionadas, las afectaciones por *S. oryzae* se han incrementado en los últimos años al reducir el poder germinativo y del peso específico del grano, además de desvalorizar el valor comercial del producto. (Ramos, 2016) identifica a *S. oryzae* por su preferencia en arroz, sorgo, maíz almacenado y (Saad, 2018) lo describe en afectaciones importantes en trigo almacenado.

En Cuba han sido variadas las alternativas tomadas para combatir estas plagas, pero la más utilizada y que mejores resultados ha ofrecido, es el uso de especies botánicas con actividad fitoplaguicida para la síntesis de nuevos tipos de insecticidas relativamente seguros para el hombre y su entorno. El uso de aceites esenciales de estas especies botánicas es una de estas alternativas utilizadas por ser potencialmente activas sobre este insecto (Koutsaviti, 2018). Estos aceites constituyen perspectivas menos tóxicas y ecológicas que permiten reducir las pérdidas ocasionadas por la plaga (Song, 2016). Entre las plantas utilizadas se encuentran representantes de las familias *Asteraceae*, *Apiaceae*, *Fabácea*, *Clusiaceae*, *Meliácea*, *Piperácea*, *Lamiaceae*, *Laurácea*, *Solanácea* y *Myrtaceae*; las cuáles poseen importantes volúmenes de aceites esenciales (Pino, 2013).

### **1.6 *Sitophilus oryzae*: biología y reproducción**

*S. oryzae* pertenece al orden Coleóptera, familia Curculionidae especie *Sitophilus oryzae*, subespecies *Sitophilus oryzae-oryzae*. Su principal característica está determinada porque posee una cabeza prolongada que forma una trompa curvada, donde se insertan las piezas bucales. Las trompas de los machos son más cortas y ásperas que las de las hembras (Castillo, 2006).

El ciclo de vida del huevo para incitar puede ser de tan solo 32 días por el verano, el insecto adulto permanece dentro del grano durante tres a cuatro días hasta que endurece y madura y puede vivir durante tres a seis meses (Zaghloul, 2012).

Las hembras de *S. oryzae* horadan el grano, eligiendo la región amilácea o el germen del mismo para realizar la ovoposición, donde excava con sus mandíbulas un agujero, alisa los bordes y deposita los huevos. Luego de poner los huevos, descarga una sustancia traslúcida sobre éste y lo apisona hasta nivelarla con la superficie del grano, cada hembra ovoposita de 300 a 400 huevos (Descamps, 2004). La fecundidad en el insecto alcanza niveles óptimos cuando la proporción de machos y hembras es 2:5.

Al aumentar la densidad masculina en sus poblaciones, se reduce la longevidad y la ovoposición, al recurrir la hembra más tiempo en la cópula, lo cual resta período a la alimentación de la misma y afecta el comportamiento de la reproducción (Flay, 2014).

### **1.6.1 Daño**

*S. oryzae* es considerado la plaga más importante en productos almacenados, cada larva destruye durante su desarrollo, entre el 50 y el 70 % del endospermo de la semilla, además de quitarle un gran porcentaje de proteínas y vitaminas a las mismas (Hong, 2018).

Al determinar la presencia de insectos plagas en el almacenaje de maíz y la variación de la calidad comercial de los granos, se comprobó que *S. oryzae* fue la población más importante al provocar plagamientos en silos (Otermin, 2015). Esta especie y *S. zeamais* son morfológicamente muy similares y durante los últimos años se consideran las plagas más destructivas en los cereales.

Estudios realizados sobre distintos granos almacenados, indican que el incremento de *S. oryzae* en maíz es 1,26 veces superior al que ostenta el insecto sobre arroz y 1,98 veces al del chícharo, durante igual período de tiempo, en iguales condiciones de almacenamiento (Valdés, 2008); (Fig. 9; 10;11).



Fig. 9; 10; 11: Daño ocasionado por *Sitophilus oryzae*

### **1.6.2 Medios de control**

Las medidas utilizadas para el control de las plagas en los granos almacenados proponen la utilización de locales adecuados para el almacenamiento, limpieza periódica de los mismos, almacenaje del producto de manera que facilite los muestreos y la verificación de tratamiento previo de disminución de la humedad relativa del grano y la temperatura.

#### **1.6.2.1 Control químico**

Los plaguicidas más usados en la protección de granos son los insecticidas de contacto organofosforados (Actellic CE 50) o los piretroides (K-Obiol CE 2,5. (2,5+25) y fumigantes como halogenuro de alquilo (Bromuro de Metilo GL 98) o fosforo orgánico. Estos productos químicos, son ampliamente utilizados en silos y almacenes, debido a su eficacia y bajo costo como el método más efectivo para el control de este insecto (Jeong Hong, 2017).

Aun cuando, se ha referido la alta resistencia de *S. oryzae* a productos como fosfuro de aluminio, preocupación que globalmente también se ha elevado ante el uso de fumigantes como el bromuro de metilo y ha generado mecanismos de resistencia en los insectos plagas, impactando negativamente en la calidad ambiental y en los alimentos, representando un riesgo para la salud del consumidor final (Souza Tette P, 2016).

#### **1.6.2.2 Control físico**

Dentro de las medidas utilizadas en el control físico se puede mencionar el empleo de radiaciones que resulta exitoso cuando los productos son estables, tienen baja humedad relativa y toleran las dosis de radiaciones requeridas para lograr el propósito determinado a nivel de almacenes comerciales o industriales. Igualmente, mantener los granos con temperaturas inferiores a 10°C brinda un control eficaz de la plaga en estas condiciones.

#### **1.6.2.3 Control biológico**

El control biológico fue definido como el uso de organismos naturales (genes) o modificados (productos biológicos) que reducen el efecto de organismos indeseables (plagas) y favorece a organismos útiles como cultivos, árboles, animales e insectos benéficos y microorganismos. La liberación de enemigos naturales en granos almacenados permite protegerles de condiciones adversas como el clima, además los agentes controladores que sobreviven hasta las últimas etapas del almacenamiento no son dañinos, como pueden llegar a ser los residuos de plaguicidas. Los enemigos naturales a ser utilizados pueden ser parasitoides y depredadores, aunque se mencionan organismos entomopatógenos capaces de realizar un control efectivo de insectos en estos

entornos. En los últimos años se han comenzado a utilizar medios de control biológicos como la aplicación de *Beauveria bassiana* y residuos de plantas que presentan olores fuertes y penetrantes, estos son producto de bajo costo sin residualidad tóxica sobre los granos, causando reducciones significativas del número de huevos puestos por *S. oryzae*. De estos entomopatógenos, *B. bassiana*, es reportado como el hongo más efectivo sobre *S. oryzae* con una mortalidad cercana al 100 % (Sabbour, 2015).

### **1.7 Técnicas para la determinación de aceites esenciales y extractos**

Existen diversas técnicas a nivel mundial para la determinación de aceites esenciales y extractos de diferentes plantas como son: Infusión, Digestión, Decocción, Coladura, Extracción por Fluidos Supercríticos (SFE), Eufleurage, Hidrodestilación (HD), Maceración, Soxhlet, Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU) entre otros. Debido a que son métodos simples, económicos y no necesitan de equipos sofisticados, los últimos cuatro son los más conocidos y utilizados. En una comparación realizada por Stewart y algunos colegas, entre los métodos SFE y HD llegaron a diversas conclusiones, SFE es una técnica modernizada que acorta el tiempo de trabajo, previene la polución, reduce el consumo de solventes orgánicos, además de eliminar los residuos de estos; HD es una técnica simple que solo necesita agua y corriente eléctrica por lo que es muy económica y sus equipos son bastantes sencillos. El análisis se realizó para la planta *Pimenta Dioica* y su aceite esencial con hexano como solvente, SFE dio un rendimiento de 6,4 % y mientras que HD presentó un 1,4 %, a pesar de que por el método más avanzado se evidenció una mayor cantidad de aceite extraído y una gran diferencia entre los rendimientos obtenidos, cuando se le realizó la CG-EM, HD fue el de mayores resultados al extraer 43 metabolitos de la mezcla que equivale a 90,26 % del

total, mientras que SFE obtuvo el 82,99 % (Stewart, 2016). Para estos estudios no solo es la modernidad de las técnicas sino la viabilidad económica de las mismas así como la conveniencia del proceso.

A pesar de que HD es un procedimiento que ofrece rendimientos bajos, es el método más utilizado dado su facilidad para la obtención de aceites, luego de obtenidos estos podemos utilizar otras técnicas como es la Cromatografía de Capa Delgada que se ha convertido en un método muy utilizado por ser simple, rápido, exacto y específico cuando se trata de estimación cuantitativa (Archana Shaha, 2014).

# II: Materiales y Métodos

## II: MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Química Orgánica, Departamento de Licenciatura Química, Facultad Química-Farmacia de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.

### 2.1 Materiales, equipos y reactivos utilizados

**Tabla 2: Materiales y equipos utilizados**

<b>Materiales y equipos</b>	<b>Modelo</b>	<b>Marca</b>
<b>Mantas de calentamiento</b>		
<b>Hornilla</b>	FRC-150	Raypa
<b>Balanza técnica</b>	BS 2202 S	Sartorius
<b>Rotoevaporador</b>	RV10	IKA
<b>Estufa</b>		Boxun
<b>Baño ultrasónico</b>	SB-3200DT	Ultrasonic Cleaner
<b>Refractómetro digital</b>	WYA-S	ABBE
<b>Cromatógrafo gaseoso</b>	6890 GC System	Hewlett Packard
<b>Espectrofotómetro de masa</b>	5973	Agilent

Todos los reactivos utilizados fueron de las firmas MERCK y PANREAC.

### 2.2 Obtención de extractos y aceites esenciales

#### 2.2.1 Selección y preparación del material vegetal

Los especímenes que fueron seleccionados para realizar las colectas del material vegetal pertenecen a la familia *Myrtaceae*, de diez plantas que se recolectaron al inicio, solo tres especies *C. citrinus*, *P. dioica* y *S. Malaccense* serán las utilizadas en este estudio debido a un análisis previo realizado a todas ellas.

Las especies botánicas seleccionadas se encuentran presentes en la Región Central de Cuba, a la vez, forman parte de la colección del Jardín Botánico de Cienfuegos, localizado en la ciudad del mismo nombre. Cada especie fue recolectada por separado, sin agrupar partes de una especie con las pertenecientes a otra. Los órganos escogidos en la colecta fueron hojas adultas, se cogieron directamente de las plantas, en el mes de febrero, en el horario de 9:00 a 11:00 de la mañana, y se verificó que fueran hojas sin daño visible. Se tomaron a partir del segundo par de hojas de las ramas seleccionadas cercanas al tallo, a una altura de 2 m del suelo, siguiendo el criterio de recolección, que consiste en escoger hojas al azar, en distintas posiciones alrededor del tallo, considerando los puntos cardinales (Vogel, 1997).

El material vegetal fue colocado en bolsas de nylon y llevado al Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad Química-Farmacia, donde fue lavado con abundante agua corriente hasta eliminar las impurezas externas visibles y luego enjuagado con agua destilada. Inmediatamente, se separó una parte de este material para la extracción del aceite esencial y la otra se introdujo en una estufa, marca Boxun, a 40°C durante 2 h para su secado, cada planta por separado, para lo que se tomó el peso de las muestras cada dos días hasta mantenerlo constante (Pérez, 2007).

De acuerdo con Ramírez, las hojas de cada especies botánicas fueron molidas por separado, limpiando este cada vez que se comenzara con una planta nueva, durante este proceso se obtuvieron partículas menores a 1 mm (Ramírez, 2005). Los polvos obtenidos en el proceso se almacenaron en frascos de cristal de 250 mL de capacidad, un frasco por especie botánica. Posteriormente, cada recipiente fue etiquetado, enumerado,

sellado y colocado en un lugar fresco y seco, bajo condiciones de oscuridad y baja humedad, hasta el momento de su uso.

### **2.2.2 Métodos utilizados**

Existen diferentes métodos que se utilizan para la obtención de extractos de plantas, escogidos por su facilidad y por ser su utilización de gran escala a nivel mundial. Además, su empleo no requiere equipos modernos y sofisticados, por lo que constituyen la alternativa más barata y eficiente.

#### **2.2.2.1 Maceración**

Método de extracción sólido-líquido donde el material vegetal que se pretende extraer contiene compuestos solubles en el líquido de extracción. Para este trabajo se utilizaron 50,00 g de material vegetal, 200 mL del solvente a utilizar y se le dio un tiempo de duración de 48 h en reposo (Rodríguez, 2008).

#### **2.2.2.2 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)**

Es un método de alta eficiencia, bajo costo y posibilidad de extracción a bajas temperaturas, también facilita la rehidratación del tejido si se están utilizando materiales secos al abrir los poros, lo que permite al disolvente llegar a las zonas de más difícil acceso (Heleno, 2015); (Acosta Esquijarosa, 2016). En este trabajo se utilizaron 25,00 g de material vegetal, 150 mL de solvente y se le dio un tiempo de duración de 15 min.

#### **2.2.2.3 Extracción por Soxhlet**

Es un proceso de extracción continua de un material sólido que contiene algunos de los compuestos deseados (Coca, 2017). Para este estudio utilizamos 25,00 g de material

vegetal, 100 mL del solvente que se fuera a utilizar en cada caso y se le dio un tiempo de duración de 2 h y 30 min.

### **2.2.3 Obtención de aceites esenciales por Hidrodestilación**

Para la extracción de los aceites esenciales nos basamos en el método de hidrodestilación donde se utilizó un equipo Clevenger según lo establecido en la norma ISO 65-71:84 (1984). Para este trabajo se tomaron 30,00 g de material vegetal, se colocaron en el equipo, se les dio un tiempo de 2 h y después se extrajo el aceite con un gotero y una pipeta, este se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se guardó en refrigeración hasta su análisis (Sánchez, 2014). Para el cálculo del rendimiento de los aceites se utilizó la fórmula:

$$R = \frac{M1}{M2} \cdot 100$$

Donde: M1: masa del producto obtenido

M2: masa vegetal

100: factor matemático

### **2.2.4 Análisis cromatográfico mediante CG-EM**

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 GC System (USA), acoplado con un espectrómetro de masa Agilent 5973 (USA) equipado con una columna capilar HP-5 (25 m x 0,25 mm) (Hewlett Packard, USA) con 0,33  $\mu\text{m}$  de espesor. El gas portador fue He ( $1 \text{ mL}/\text{min}^{-1}$ ). La programación de temperatura de la columna inicialmente del horno fue de  $50^{\circ}\text{C}$  durante 3 min, ascendiendo gradualmente a  $150^{\circ}\text{C}$  con un incremento de  $20^{\circ}\text{C}$  por min, luego estable a

150 °C durante 3 min y finalmente a una tasa de 10 °C por minuto hasta alcanzar 300 °C. Se realizaron inyecciones de 3 µL de muestra con una concentración estándar de 1,15 mg/mL. La Ciclohexanona (Fisher, Canadá) a una concentración de 98,9 % fue agregada a las muestras como estándar interno para comparación y cuantificación de los compuestos identificados. Además, los componentes en los aceites de *P. dioica* y *C. citrinus*, así como los extractos obtenidos que fueron activos sobre *S. oryzae*, fueron caracterizados mediante el *software* MSD ChemStation G170 1 EA E.02.02.143. Los picos individualmente fueron identificados por comparación con tiempo de retención y del espectro de masas con los publicados en la literatura (Adams, 2007).

III: Análisis  
Y  
Discusión  
De  
Resultados

### **III: ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

#### **3.1 Obtención de los aceites esenciales y sus características**

Mediante la utilización de la técnica de hidrodestilación se procedió a la obtención de los aceites esenciales de las hojas de las tres plantas que, teniendo en cuenta los resultados de su actividad biológica, se seleccionaron para este trabajo.

Para *Callistemon Citrinus* obtuvimos un líquido aceitoso de color amarillo y olor suave, agradable, con una masa de 0,3050 g lo que corresponde a un rendimiento de 1,01 % respecto a la masa del material vegetal utilizado (30,02 g).

En el caso de la *Pimenta Dioica* obtuvimos un líquido aceitoso de color amarillo oscuro y olor fuerte, con una masa de 0,2984 g lo que corresponde a un rendimiento de 0,99 % respecto a la masa del material vegetal utilizado (30,01 g).

En ambos casos a las dos horas de haber comenzado la destilación el proceso fue detenido al no apreciar un aumento en el volumen de la capa oleosa.

Con la planta de *Syzygium Malaccense* a las tres horas de haber comenzado el proceso no apreciamos la capa oleosa que debió aparecer en la trampa de destilación por lo que no fue obtenido el aceite esencial. En la literatura consultada aparecen estudios realizados para la obtención de aceites por diferentes autores a partir de hojas frescas y mediante el método de Hidrodestilación (Sousa de Alencar Silva, 2017); (Fouad, 2017), sin embargo somos del criterio que es necesario repetir este experimento utilizando el material vegetal recolectado en otras condiciones para poder confirmar que en el mismo se acumule o no el aceite.

**Tabla 3: Rendimiento de los aceites esenciales obtenidos**

<b>Aceite esencial</b>	<i>Callistemon Citrinus</i>	<i>Pimenta Dioica</i>	<i>Syzygium Malaccense</i>
<b>Rendimiento (%)</b>	<b>1,01</b>	<b>0,99</b>	–

En general, el rendimiento de los aceites esenciales es bajo, de acuerdo a investigaciones y publicaciones examinadas, variando entre 0,01 y 2,00 % (Moreno, 2010). De acuerdo a los resultados obtenidos de los aceites de *C. Citrinus* y *P. Dioica* podemos decir que sus valores se encuentran en el rango de otros valores reportados en la literatura, como es el caso de (Guerra, 2003) donde obtuvieron un rendimiento de aceite esencial de 0,92 % para el *Callistemon Speciosus* recolectado en Carabobo, mientras que en la especie del Estado Lara se obtuvo un rendimiento de 0,86 % y un 0,46 % para la especie recolectada en Mérida. También (Lizano Cruz, 2013) obtuvo un rendimiento de 1,0 % para la *P. Dioica* del Pacífico Sur de Costa Rica. Además, en estos resultados alcanzados probablemente influenció el método de extracción aplicado y adicionalmente a esto se sumaría el área de cultivo, especie y edad de la planta (Pierozan, 2009).

### **3.2 Obtención de los extractos y sus características**

Teniendo en cuenta los resultados precedentes, con las tres plantas seleccionadas *C. Citrinus*, *P. Dioica* y *S. Malaccense* se obtuvieron extractos de polaridad creciente utilizando n-hexano, acetato de etilo y metanol. Para la preparación de cada uno de ellos se utilizaron los procedimientos de extracción continua mediante Soxhlet, Extracción Asistida por Ultrasonido y Maceración a temperatura ambiente por lo que finalmente se

tuvieron 27 extractos al combinar las 3 plantas con los 3 solventes y 3 tratamientos cada una (Tabla 4).

**Tabla 4: Relación de plantas, métodos, solventes y rendimientos**

Planta, método y solvente	Peso(g)	Planta, método y solvente	Peso(g)	Planta, método y solvente	Peso(g)
PMH1	0,62	CMH10	0,55	SMH19	2,16
PMAE2	0,66	CMAE11	1,89	SMAE20	3,69
PMM3	4,39	CMM12	4,03	SMM21	1,56
PSH4	0,28	CSH13	1,04	SSH22	0,4
PSAE5	0,43	CSAE14	4,22	SSAE23	0,14
PSM6	2,14	CSM15	1,11	SSM24	0,89
PUH7	1,09	CUH16	0,99	SUH25	0,67
PUAE8	2,15	CUAE17	3,75	SUAE26	1,05
PUM9	4,01	CUM18	2,67	SUM27	1,14

**Leyenda:**

**P:** Pimenta

**M:** Maceración

**H:** Hexano

**C:** Callistemon

**U:** Ultrasonido

**AE:** Acetato de etilo

**S:** Syzygium

**S:** Soxhlet

**M:** Metanol

Los resultados de la actividad biológica demostraron que los extractos PMH, SUM, SMAE, SSH, PSH y CSH fueron los más activos frente a *Sitophilus oryzae*, por lo que se procedió a profundizar en el estudio de los mismos; en este trabajo presentamos los resultados correspondientes a los tres primeros.

El extracto de *P. Dioica* en n-hexano utilizando Maceración (PMH) se obtuvo con un rendimiento de 1,24 % (masa extracto/masa material vegetal) resultó ser un sólido pastoso de color verde oscuro y olor penetrante.

Para los extractos SUM y SMAE de la planta *S. Malaccense*, se utilizó como solvente, en el primero, metanol y mediante el método de Extracción Asistida por Ultrasonido se obtuvo un sólido pastoso de color verde claro y con olor algo agradable, para el segundo, el método utilizado fue la Maceración y como solvente el acetato de etilo obteniéndose un sólido con características similares al anterior, pastoso, de color verde claro y olor algo agradable.

**Tabla 5: Rendimientos de los extractos obtenidos**

<b>Extractos</b>	<b>Material vegetal (g)</b>	<b>Extractos obtenidos (g)</b>	<b>Rendimientos (M1/M2 %)</b>
<b>PMH</b>	<b>50,00</b>	<b>0,62</b>	<b>1,24</b>
<b>SUM</b>	<b>25,00</b>	<b>1,14</b>	<b>4,56</b>
<b>SMAE</b>	<b>50,00</b>	<b>3,69</b>	<b>7,38</b>

Luego de culminar este primer objetivo podemos decir que se obtuvieron satisfactoriamente los aceites esenciales de las plantas *C. Citrinus* y *P. Dioica*, dando un rendimiento de 1,01 y 0,99 % respectivamente, estando estos resultados en correspondencia con otros que fueron analizados en algunas publicaciones consultadas.

Al obtener los rendimientos de los extractos en estudio, pudimos comparar los resultados con sus similares (Tabla 5). Para PMH, PMAE y PMM se obtuvo un rendimiento de 1,24; 1,32 y 8,78 % respectivamente, considerándose variables a causa de los diferentes

solventes, a medida que aumentaba su polaridad el efecto de dicho rendimiento era mayor ya que se mantuvieron comunes la planta y el método utilizado. De la misma manera sucedió con SUH, SUAЕ y SUM donde se obtuvieron porcentajes de 2,68; 4,20 y 4,56 respectivamente. Siendo totalmente diferente para SMH, SMAE y SMM los cuales alcanzaron resultados de 4,32; 7,38 y 3,12 % respectivamente, no coincidiendo con los valores anteriores, probablemente debido a una variación de la temperatura.

### 3.3 Determinación de propiedades físicas y químicas

Recordemos que los aceites esenciales son mezclas que pueden llegar a ser muy complejas, por lo que la identificación de sus componentes no es una tarea fácil. Es por ello que su control se limita en buena parte a la determinación de sus constantes físicas, (solubilidad, densidad, poder rotatorio, índice de refracción) o algunos índices químicos (ácidos, éster, acetilo, fenoles, etc.). Valores de estos parámetros para un gran número de aceites se encuentran reunidos en el texto clásico sobre aceites esenciales como el de Gunther y el de Gildemeister y Hoffmann. La evaluación de estas constantes físico-químicas se mantiene en la actualidad dentro de las tareas de control de la calidad a nivel industrial (Cañigüeral, 1998).

#### 3.3.1 Determinación de propiedades físicas de los aceites esenciales de hojas de

##### *Callistemon Citrinus* y *Pimenta Dioica*

**Tabla 6: Propiedades físicas**

Características	A.E de <i>Callistemon Citrinus</i>	A.E de <i>Pimenta Dioica</i>
Índice de refracción	1,46	1,35
Solubilidad (etanol 96 %)	Soluble	Soluble

Los resultados obtenidos para los aceites esenciales de *C. Citrinus* y *P. Dioica* en cuanto al índice de refracción son similares al 1,47 y 1,48 que presentan otros autores para otra especies de plantas (Azaña Diaz, 2017); (Quintana Pino, 2012).

### 3.3.2 Determinación cualitativa de metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico presentes en extractos obtenidos

**Tabla 7: Tamizaje fitoquímico**

Reactivo identificador / propósito	PMH	SUM	SMAE
Dragendorff / alcaloides	-	-	-
Baljet / cumarinas	-	+++	++
Borntreger / quinonas	-	+	-
Liebermam-Burchard / triterpenos y/o esteroides	+	+	+
Agua destilada / resinas	-	-	-
Fehling / azúcares reductores	-	+	+++
Agua destilada / saponinas	-	++	-
Cloruro de hierro (III) / fenoles y taninos	-	+	-
Ninhidrina / aminoácidos	-	-	-
Shinoda / flavonoides	-	+	-
H <sup>+</sup> / Antocianidinas	-	-	-
Kedde / glicósidos cardiotónicos	-	-	-

**Leyenda:** (+) Se encuentra presente el metabolito, (-) No se encuentra presente el metabolito

Como resultado del análisis cualitativo el extracto de *P. Dioica* fue solamente positivo en muy baja proporción para triterpenos y/o esteroides; aquí debemos tener en cuenta que este extracto se hizo con n-hexano por lo que sus componentes son de baja polaridad y no se detectan por la técnica aquí utilizada.

Para los dos extractos de *S. Malaccense* lo más significativo fue la presencia de cumarinas, más abundantes en el metanólico al observarse una aparición de coloración al interactuar los extractos con las soluciones de NaOH al 10 % y ácido pícrico al 1 % en etanol. Lo planteado anteriormente coincide con los resultados obtenidos por Velásquez, quien realizó dos tamizajes con diferentes solventes cada uno, demostrando ambas presencia de cumarinas, las cuales se utilizan en el control de diferentes plagas en la agricultura (Velásquez, 2012).

Otros metabolitos detectados en abundancia en esta planta fueron los azúcares reductores, sin embargo, aparecen en mayor concentración en el extracto de acetato de etilo respecto al metanólico, contradictorio debido a la mayor solubilidad de estos en alcoholes, razón por la cual el experimento debe ser verificado.

Entre estos resultados también se destaca la presencia moderada de saponinas en SUM, lo cual es coherente con algunos resultados que aparecen en la literatura de los que se destaca que los metabolitos poseen una acción hemolítica que hace que se destruyan los componentes de la hemolinfa de los insectos, provocando coagulación, derrames internos y la muerte. En menor proporción se destacaron en esta planta quinonas, esteroides y fenoles coincidiendo así con algunos reportes de otros autores y también discrepando con otros debido al uso de diferentes solventes.

Al respecto (Lozada, 2015), evaluó el efecto alelopático de los extractos acuosos de ocho especies de *Myrtaceae*, para el control de *S. oryzae* L. y demostró que todos los extractos tuvieron efecto insecticida.

Estos resultados hay que tratarlos con cuidado pues el tamizaje fitoquímico es una de las etapas intermedias de la investigación química, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta pero no pueden considerarse como un resultado concluyente porque la presencia o la ausencia de un metabolito está influenciada por varios factores como por ejemplo: la época de recolección, el tipo de secado y la conservación (o ambos), el estado vegetativo de la planta, la solubilidad en el solvente empleado y la interferencia de otros metabolitos, entre otros.

### 3.4 Caracterización química de los aceites esenciales y extractos obtenidos de las especies más efectivas sobre *S. oryzae* L. mediante CG-EM

#### 3.4.1 Caracterización química del aceite esencial de *P. dioica*

Al culminar la caracterización del aceite esencial de la especie evaluado sobre *S. oryzae*, se identificó como compuestos mayoritarios eugenol 40,60 % (Fig.12), metoxieugenol 6,64 % (Fig.13), cariofileno 5,35 % (Fig.14) y 1,8 cineol 2,73 % (Fig.15). En la siguiente tabla se presentan los demás compuestos identificados.

**Tabla 8: Caracterización química del aceite esencial de *P. dioica***

RT (min)	Nombre del Compuesto	I. K	%
9,81	3-careno	621	0,12
14,16	1,8-cineol	875	2,73
14,70	Ocimeno	901	0,30
24,39	Terpineol	915	0,11
36,95	Eugenol	1 507	40,60
37,17	3-alil-2-metoxifenol	1 418	3,31
39,36	Cariofileno	1 520	5,35
41,97	$\alpha$ -humuleno	1 591	0,85
43,66	Germacreno	1 649	0,34
43,93	$\beta$ -selineno	1 658	0,19
44,49	$\alpha$ -selineno	1 676	0,35

44,87	$\alpha$ -muuroleno	1 689	0,13
45,65	$\delta$ - cadinol	1 724	0,38
46,25	$\beta$ -cardineno	1 745	0,19
49,57	Globulol	1 852	0,38
50,01	Epiglobulol	1 880	0,16
50,99	Metoxieugenol	1 912	6,64
51,99	óxido de cariofileno	1 920	0,02
52,92	tau-muuroleno	1 981	0,75
53,17	$\delta$ -Cadinol	1 994	0,23
53,60	$\alpha$ -Cadinol	2 206	1,54
68,84	Isoeugenol	2 510	0,04

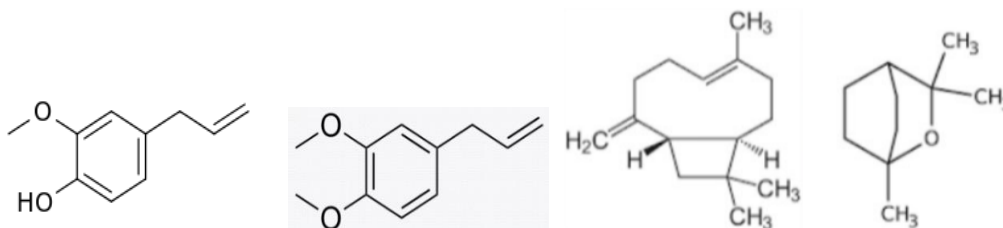


Fig.12: eugenol Fig.13: metoxieugenol Fig.14: cariofileno Fig.15: 1,8-cineol

Los compuestos encontrados en mayor porcentaje en el aceite esencial concuerdan con los resultados obtenidos en investigaciones precedentes realizadas por (Pino, 1996) en la región occidental de Cuba en hojas de *P. dioica*, al identificar como compuesto mayoritarios eugenol en un rango de (54,3 % a 79,2 %), 1,8-cineol (1,1 % a 4,6 %),  $\beta$ -cariofileno (1,0 % a 8,7 %) y óxido de cariofileno (0,2 % - 1,8 %). Sin embargo, en esta misma región (Hernández, 2003) informa la presencia de eugenol en menor proporción 31,14 %,  $\alpha$ -humuleno, en 10,12 %,  $\alpha$ -muuroleno 1,76 %, terpinoleno 1,38 %, óxido de cariofileno 2,69 % y  $\alpha$ -cadineno 5,49 %.

Resultados similares también son referido por (Stewart, 2016) al identificar como compuesto mayoritarios eugenol 53,34 %,  $\beta$ -cariofileno 4,40 %,  $\alpha$ -humuleno 1,74 % y

1,8-cineol 2,48 %, lo que nos llama la atención es que en todas estas consultas realizadas no se ha encontrado el compuesto metoxieugenol.

De los compuestos identificados se destaca la presencia en mayor proporción de eugenol, compuesto que posee acción insecticida sobre plagas, al actuar a través del sistema octopaminérgico, activa los receptores de la octopamina (Isman, 2006), actúa sobre la acetilcolinesterasa inhibiendo la actividad celular y los procesos biológicos de los insectos. Los canales de cloro son bloqueados por el eugenol y provoca la intoxicación en los insectos (Bernard, 1995).

### 3.4.2 Caracterización química del aceite esencial de *C. citrinus*

En el caso del aceite de *C. citrinus*, los compuestos identificados fueron 1,8-cineol 51,90 % (Fig.16), linalool 0,63 % (Fig.17), terpineol 9,07 % (Fig.18) y  $\alpha$ -pineno 11,31 % (Fig.19), además podemos encontrar también eugenol 0,10 %, aunque no sea mayoritario.

**Tabla 9: Caracterización química del aceite esencial de *C. citrinus***

RT (min)	Compuesto	I. K	%
9,24	$\alpha$ -pineno	357	11,31
14,43	1,8-cineol	385	51,90
18,07	$\beta$ -Terpineol	571	0,11
19,46	Linalool	695	0,63
20,38	L-pinocarveol	709	0,08
21,77	Isopinocarveol	785	0,72
22,55	4-Terpineol	825	0,16
25,51	Terpineol	967	9,07
27,17	cis-Carveol	1 021	0,11
27,74	5-Isopropenil-2-metileneciclohexanol	1 047	0,14
36,14	Eugenol	1 431	0,10
39,94	Cariofileno	1 516	0,07
41,02	Aromandreno	1 558	0,05

49,52	óxido de cariofileno	1 851	0,25
49,52	Espatulenol	1 841	0,12
62,26	Ácido Hexadecanoico	2 314	0,02
75,75	$\delta$ -sitosterol	2 696	0,06

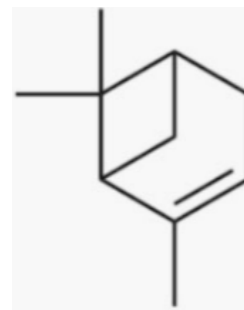
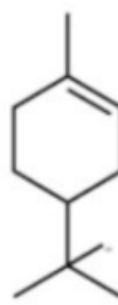
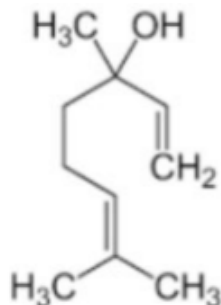
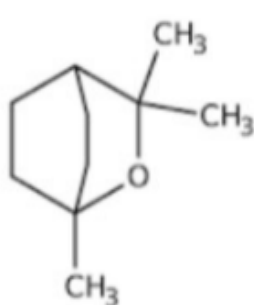


Fig.16: 1,8-cineol

Fig.17: linalool

Fig.18: terpineol

Fig.19:  $\alpha$ -pineno

En la planta *C. Citrinus* los mayores compuestos en hojas y flores son 1,8-cineol y  $\alpha$ -terpineol (Ahmed, 2016), mientras (Shrestha, 2015) reseñan la presencia de 1,8-cineol en 52,1 %,  $\alpha$ -terpineol 14,7 % y eugenol 14,2 % en esta especie, valores muy similares a los obtenidos en este trabajo.

De igual forma la presencia de  $\alpha$ -pineno identificado en menor proporción en este aceite posee propiedades repelentes (Fouad, 2017). Este compuesto posibilita una relación entre la composición química y la actividad biológica que lo hace actuar sobre la enzima acetilcolinesterasa en *S. oryzae* conjuntamente con cariofileno referido por el efecto fumigante tóxico sobre el insecto y la inhibición de esta encima (Chu, 2011).

El 1,8-cineol, también actúa como inhibidor de esta enzima, lo que hace que se altere la actividad celular y el proceso biológico de los insectos, que al afectarse el traslado de  $H_2$  bloquea el flujo de electrones e interfiere en la síntesis de energía en la cadena

respiratoria. La pérdida de la funcionalidad de esta enzima por inhibición genera síntomas y signos de envenenamiento y sobreviene la muerte (Berry, 2013).

La presencia de eugenol en *C. citrinus* aunque en menor cantidad que en el del aceite esencial de *P. dioica*, junto a 1,8 cineol, refuerzan el gran efecto insecticida sobre el insecto (Khanikor, 2011). Este comportamiento viene dado por lo susceptible que llega a ser el eugenol dada su actividad insecticida y al relacionarse con el 1,8-cineol de gran actividad tóxica provoca la acción de actuar como repelente e induce el comportamiento de evitación en los insectos y la inhibición de la acetilcolinesterasa.

Luego de analizados los resultados obtenidos para los aceites esenciales, pasamos a la caracterización mediante CG-EM de los metabolitos presentes en los extractos obtenidos:

### 3.4.3 Caracterización química de los metabolitos presentes en el extracto SUM

**Tabla 10: Caracterización química de SUM**

RT (min)	Nombre	%
8,64	1-metoxiciclohexeno	4,38
11,01	Metoxi-(S)-2-furanetanol	1,82
13,60	1,1-dimetoxiciclohexano	65,92
15,27	5-ciclopropiliden-1-pentanol	0,08
15,81	Fenilacetaldehído	0,07
17,04	óxido de-4- metoxipiridina	0,11
18,03	5-metil-2,4(1H,3H)-pirimidinediona	0,26
18,18	Metil-3- ácido furacarboxílico	0,14
18,51	2,6-dimetil-3,5-heptanediona	0,08
19,46	Undecano	0,07
25,45	Metil éster-o-butoxi-ácido benzoico	0,20
27,23	2,2-dimetoxietilbenzeno	0,11
27,94	5-hidroximetil-2-furancarboxaldehído	4,56
31,37	6-metildeoxihexopiranosido	0,13

32,49	5-(prop-2-enoiloxi)pentadecano	1,39
36,13	Eugenol	0,77
38,47	1-Tetradeceno	0,15
39,35	2-metil-1-metiltetrametilensililoxipropano	0,10
40,03	4-metil-O-acetil-2,3,6-tri-O-etil- $\alpha$ -D-galactopiranosido	0,14
44,36	1,6-anhidro- $\beta$ -D-glucopiranososa	2,44
50,39	(Z)-7-hexadeceno	0,08
51,86	Benzofenona	0,13
73,33	Acetato- $\alpha$ -tocoferol	0,87
75,07	17-pentatriaconteno	0,70
75,75	22,23-dihidroestigmasterol	2,87
77,08	Betulina	0,34

Los metabolitos mayoritarios identificados fueron el 1,1-dimetoxiciclohexano 65,92 %, 1-metoxiciclohexeno 4.38 % (Fig.20), además se encontraron metoxi-(S)-2-furanetanol 1,82 %, 5-hidroximetil-2-furancarboxaldehído 4,56 %, 1,6-anhidro- $\beta$ -D glucopiranososa 2,44 % y 22,23-dihidroestigmasterol 2,87 % (Fig.21). A pesar de que estos compuestos fueron los más representativos se pudo encontrar también eugenol 0,77 % aunque en menor cantidad.

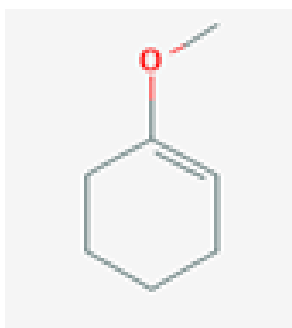


Fig.20: 1-metoxiciclohexeno

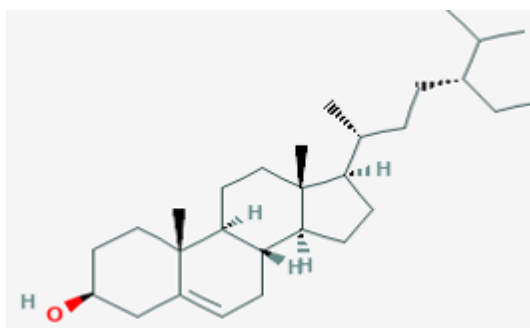


Fig.21: 22,23-dihidroestigmasterol

Algunos de los compuestos mayoritarios encontrados han sido mencionados por otros autores (Krier, 2020) donde plantea, que el Espirotematrat es un compuesto del azaspiro y además un insecticida que en su estructura posee metoxiciclohexeno. Además, otros

compuestos como el butóxido de piperonil tiene en su estructura metoxiciclohexeno, este compuesto no tiene por sí mismo propiedades plaguicidas, sin embargo, cuando se añade a compuestos insecticidas su potencia es incrementada considerablemente inhibiendo los mecanismos de detoxificación permitiendo que las concentraciones del insecticida dentro del organismo sean mayores ya que impide su metabolización haciendo que permanezca más tiempo dentro del cuerpo del insecto a eliminar.

(Mhalla, 2018) identificó el 22,23-dihidroestigmasterol más conocido como  $\beta$ -sitosterol en el extracto de hexano preparado de las hojas de *R.tingitanus*, presentando toxicidad crónica y gran actividad larvicida mostrando la muerte total de larvas de *S. littoralis* en un plazo de 48 horas. Por otra parte, este compuesto es uno de los principales dietéticos existentes, se utiliza en la fabricación de cosméticos como estabilizador y puede tener el potencial para la prevención y terapia contra el cáncer ya que es caracterizado como anti-carcinogénico y anti-aterogénico.

#### 3.4.4 Caracterización química de los metabolitos presentes en el extracto SMAE

**Tabla 11: Caracterización química de SMAE**

RT (min)	Nombre	%
8,76	1-metoxiciclohexeno	1,41
13,55	1,1-dimetoxiciclohexano	55,07
57,92	3,3-dimetil-2-(3-metil-1,3-butadienil)-(E)-ciclopentanona	0,06
59,80	1-Nonadeceno	0,06
60,90	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	0,16
61,55	3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0,45
62,80	Ácido hexadecanoico	2,81
63,19	1-Docoseno	0,06
64,01	Ácido heptadecanoico	0,03
64,42	Metil éster, (E,E)-9,12-ácido octadecadienoico	0,05
64,49	Metil (7E)-7-octadecenoato	0,03

64,63	Fitol	0,50
64,85	Acetato (Z,Z)-7,11-hexadecadien-1-ol	1,23
64,91	Ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico	1,68
65,12	Ácido octadecanoico	0,37
65,45	1-Docosanol	0,04
67,28	12-Metil-E,E-2,13-octadecadien-1-ol	0,02
67,34	3-Etil-5-(2'-etilbutil)octadecano	0,01
68,17	3-pentadecilfenol	1,54
68,63	Dioctil éster ácido-2-benzenodicarboxílico	0,04
69,60	1-metiletenilo-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4-dimetilazuleno	0,68
69,68	m-pentadecilfenol	0,78
70,71	Trans-Escualeno	1,32
70,97	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecametil-hexasiloxano	0,41
71,12	2-[(1,1-dimetiletoxi)] carbonilo ácido pirrolidinbutanoico	0,33
72,74	Tetratetraconteno	1,19
73,33	$\delta$ -Sitosterol	1,29
75,75	Sitosterol	0,66

Para el extracto SMAE los metabolitos mayoritarios que se identificaron fueron 1-metoxiciclohexeno 1,41 %, 1,1-dimetoxiciclohexano 55,07 %, ácido hexadecanoico 2,81 % (Fig.22), Z,Z-acetato-7,11-hexadecadien-1-ol 1,23 % (Fig.23), Z,Z-ácido-9,12-octadecadienoico 1,68 % (Fig.24), trans-escualeno 1,32 %, y  $\delta$ -Sitosterol 1,29 %. Aunque no fueron identificados algunos de los metabolitos que más se citan en la literatura, esto no quiere decir que el extracto no presente actividad insecticida, sólo que debe estar presente en alguno de los nuevos compuestos determinados.



Fig.22: ácido hexadecanoico

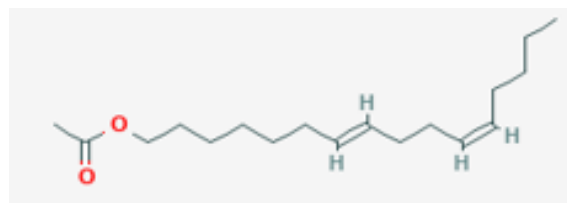


Fig.23: Z,Z-acetato-7,11-hexadecadien-1-ol

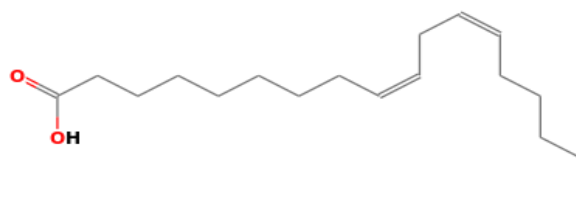


Fig.24: Z,Z-ácido-9,12-octadecadienoico

El ácido hexadecanoico, más conocido como ácido palmítico fue utilizado para supervisar y entrapar al Barrenador de Cacahuets (*Caryedon serratus*), donde describe los cambios en el comportamiento provocado por el éster sintetizado de dicho ácido que puede utilizarse eficazmente para vigilar las poblaciones de plagas y reducir el riesgo de que estas se establezcan (Tewari, 2015).

El Z,Z-acetato-7,11-hexadecadien-1-ol es un insecticida de gran empleo debido a sus características volátiles, fue usado como atrayente al mezclar partes iguales de sus isómeros con la feromona que libera el sexo natural de la polilla *Bollworm rosa*, siendo esta la principal causa de que las cosechas de algodón no rindan al nivel deseados . Para su control, esta mezcla se riega cerca de los sembrados y así el insecto solo se concentra en ese aroma perdiendo el interés en la planta.

El Z,Z-ácido-9,12-octadecadienoico se encontró entre los compuestos predominantes con 12,62 % en el extracto de hojas de *C. arvense* pudiendo ser el responsable de la actividad antifúngica al probarlo contra *M. phaseolina* (Banaras, 2017). Por otra parte en resultados del análisis de fragmentos purificados de *Oreosyce Africana*, el Z,Z-ácido-9,12-octadecadienoico fue el elector químico mayor con un 98,35 %, dichos fragmentos poseen un adulticidal muy alto que es usado efectivamente contra el vector principal de la Malaria, además de ser muy económico el uso de estos insecticidas inorgánicos

existentes, ayudando así a que haya una menor toxicidad medioambiental en esta parte de la región de Etiopía (Bekele, 2016).

### 3.4.5 Caracterización química de los metabolitos presentes en el extracto PMH

**Tabla 12: Caracterización química de PMH**

RT (min)	Nombre	%
13,59	1,1-dimetilciclohexano	0,10
34,83	Isoeugenol	0,05
35,52	p-Eugenol	1,05
36,22	Eugenol	30,30
49,48	óxido de cariofileno	0,22
50,92	2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-fenol	0,66
51,23	tau-Muurolol	1,87
52,29	Cubenol	0,14
53,55	$\alpha$ -Cadinol	2,10
67,01	Metil-5- (4,8,12-trimetiltridecil)dihidro	0,48
68,35	3-acetiloxi-5-hidroxi-pregnan-20-ona	0,12
69,10	Trimetilsililéster-1-monolinoleoilglicerol	0,14
69,37	3-Alil-6-metoxifenol	0,14
69,49	2-metoxi-6-(1-propenil)-fenol	0,31
69,71	Heptacosano	0,55
70,40	17-Pentatriaconteno	0,83
70,71	Escualeno	0,82
70,97	2-[(1,1-dimetiletoxi)carbonilo-Ácidopirrolidinbutanoico	0,38
71,14	Nonacosano	8,26
71,87	1,5-dibromo-tetrapentaconteno	0,06
73,11	3,5-dehidro-6-metoxi,pivalato colest-22-eno-21-ol	0,43
73,33	Vitamina E	0,48
75,75	Tetratetracontano	2,27
76,40	$\alpha$ -Amirin	0,47
77,10	Lupeol	6,71

En el caso del extracto PMH se identificaron como metabolitos mayoritarios el eugenol con 30,30 % (Fig.25), también p-eugenol 1,05 %,  $\alpha$ -cadinol 2,10 %, lupeol 6,71 % (Fig.26) y nonacosano 8,26 % (Fig.27).

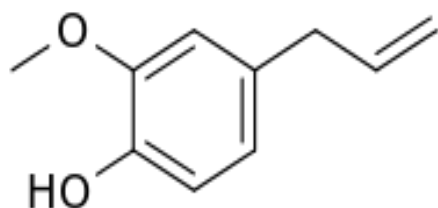


Fig.25: eugenol

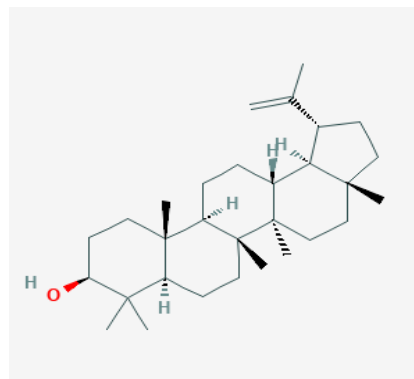


Fig.26: lupeol

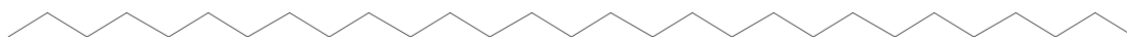


Fig.27: nonacosano

El eugenol es uno de los compuestos más referenciado cuando se trata de control de plagas, lo podemos encontrar tanto en aceites esenciales como en extractos. En estudios consultados, compuestos obtenidos como el eugenol, metil eugenol e isoeugenol mostraron la proporción de inhibición más fuerte sobre la enzima acetilcolinesterasa sobre *S. oryzae*. Además, este compuesto en combinación con el geraniol es aplicado como atrayente de insectos y para trampas en los huertos contra el escarabajo japonés, además puede aplicarse como fungicida o bactericida y también como regulador de crecimiento de plantas para promover la germinación (Hwa-Jeong Yeom, 2013).

Compuestos derivados del nonacosano se aislaron en un fragmento del extracto de n-hexánico de raíces de *Fumariaceae* donde tuvieron actividad sobre los huevos y

galancetes de *M. incognita* después de realizar una evaluación in vitro a diferentes concentraciones, estos compuestos podrían mantener la visión en la búsqueda de nuevos nematocidas (Kang, 2019).

El Lupeol es un alcohol secundario y un triterpenoide. Los extractos de *I. britannica* se probaron contra *T. cinnabarinus* mostrando que el Lupeol es tóxico para los ácaros mostrando una mortalidad alta, este compuesto cambió el equilibrio de la acetilcolinesterasa causándole dolor a estos ácaros, además de provocarles daños al filamento muscular, mitocondrias y retículo endoplasmático matándolo finalmente (Saleem, 2009).

Por todo lo anterior descrito podemos plantear que a pesar de no haber referencias de autores que hayan trabajado con extractos de las plantas abordadas en el presente trabajo, esto no quiere decir que no presenten actividad insecticida frente a *S. oryzae* porque se pudo demostrar que poseen algunos de los metabolitos más referenciados cuando se habla de plagas insectiles, además se necesitaría hacer un análisis más amplio en dichos extractos para saber cuál o cuáles de todos los metabolitos inciden de manera directa sobre el insecto.

Todos estos productos, tanto aceites esenciales como extractos en la actualidad han cobrado gran auge debido a que son apropiados con vistas a la protección de granos contra insectos plaga. Insecticidas a base de aceites esenciales de plantas comienzan a emerger como protectores vegetales y puede tener el mayor impacto en los países en vías de desarrollo y en las regiones tropicales donde las plantas están fácilmente disponibles y los productos convencionales son caros y peligrosos para los usuarios.

Según (Isman, 1997) los insectos tardan más en desarrollar resistencia a una mezcla de ingredientes activos naturales que a cualquiera de sus componentes por separado. Su compleja composición química aumenta sus posibilidades de tener varios modos de acción y por tanto disminuye la aparición de resistencia en los organismos evaluado (Sánchez *et al.*, 2014). Aunque se trate de los mismos compuestos, no siempre estarán en las mismas concentraciones lo que posibilita disminuir el impacto negativo que podría generarse de utilizar productos químicos (Chauhan, 2018).

## CONCLUSIONES

- 1- Mediante la utilización de la técnica de Hidrodestilación fueron obtenidos los aceites esenciales de *Callistemon Citrinus* y *Syzygium Malaccense*, el primero en forma de líquido oleoso de color amarillo y un rendimiento de 1,01 %, mientras que el otro es un líquido oleoso de color amarillo oscuro 0,99 % de rendimiento.
- 2- Los extractos PMH, SUM, SMAE, seleccionados por su actividad, fueron obtenidos en el laboratorio en forma de sólidos pastosos, de color verde y olores penetrantes, con rendimientos de 1,24; 4,56 y 7,38 % respectivamente.
- 3- Como resultados de la determinación cualitativa de metabolitos secundarios en los extractos se evidencia de forma mayoritaria la presencia de cumarinas y saponinas en las hojas de *Syzygium Malaccense*.
- 4- Como resultado del estudio de los aceites esenciales mediante CG-EM, en el correspondiente *Pimenta Dioica* se identificaron 22 compuestos que representan el 64,71 % del total, siendo los mayoritarios eugenol 40,60 %, metoxieugenol 6,64 %, cariofileno 5,35 % y 1,8 cineol 2,73 %, mientras que para el de *Callistemon Citrinus* se identificaron 17 compuestos que representan el 74,90 % del total, encontrándose como mayoritarios 1,8-cineol 51,90 %, linalool 0,63 %, terpineol 9,07 % y  $\alpha$ -pineno 11,31 %.
- 5- Como resultado del estudio de los extractos CG-EM, en SUM se identificaron 26 compuestos que representan un 87,91 % del total, siendo los mayoritarios 1,1-dimetoxiciclohexano 65,92 %, 1-metoxiciclohexeno 4.38 %, metoxi-(S)-2-

furanetanol 1,82 %, 5-hidroximetil-2-furancarboxaldehído 4,56 %, 1,6-anhidro- $\beta$ -D glucopiranososa 2,44 % y 22,23-dihidroestigmasterol 2,87 %. Para SMAE se identificaron 28 compuestos que representan el 72,29 % del total, siendo los mayoritarios 1-metoxiciclohexeno 1,41 %, 1,1-dimetoxiciclohexano 55,07 %, ácido hexadecanoico 2,81 %, Z,Z-acetato-7,11-hexadecadien-1-ol 1,23 %, Z,Z-ácido-9,12-octadecadienoico 1,68 %, trans-escualeno 1,32 % y  $\delta$ -Sitosterol 1,29 %. Para PMH se identificaron 25 compuestos que representan el 59,43 % del total, siendo los mayoritarios eugenol con 30,30 %, p-eugenol 1,05 %,  $\alpha$ -cadinol 2,10 %, nonacosano 8,26 % y lupeol 6,71 %.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ACEVEDO, -. R. P., & STRONG, M. T. 2012. Catalogue of seed plants of the West Indies. . *Smithsonian Contributions to Botany.* , 1168.
- ACOSTA ESQUIJAROSA, J., SALOMÓN IZQUIERDO, S., SEVILLA FERNÁNDEZ, I., & NUEVAS PAZ, L. 2016. Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de *Mangifera indica* L. (árbol del mango). . *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 261-271.
- ADAMS, R. P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry *Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.*, 456.
- AHMED, F., RAHMAN, M. S., AL MANSUR, M. A., & RASHID, M. A. 2016. Triterpenoids and Steroid from the Leaves of *Callistemon citrinus* (Curtis.). *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(1), 1-5.
- ALEKSIC, V., & KNEZEVIC, P. 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. . *Microbiological research*, 169(4), 240-254.
- ARCHANA SHAHA, V. R. S. 2014. Development and validation of a high performance thin layer chromatographic method for determination of 1, 8-Cineole in *Callistemon Citrinus*. *Department of Quality Assurance, Rajarambapu College of Pharmacy, HOD Pharmacognosy, Rajarambapu College of Pharmacy, Kasegaon, Maharashtra, India* 6, 144-146.
- AZAÑA DIAZ, V., CASTILLO VÁSQUEZ, L. 2017. *Características fisicoquímicas de los aceites esenciales de las hojas de Cymbopogon citratus y determinación del porcentaje relativo de sus componentes hidrocarbonados y oxigenados.*, Universidad Nacional de Trujillo.
- BANARAS, S., JAVAID, A., SHOAIB, A., AHMED, E. 2017. Antifungal activity of *Cirsium arvense* extracts against phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*
- BARBOSA, F., YOKOYAMA, M., PEREIRA, P. Y PFEILSTICKER, F. 2005. Estabilida de Da Resistência A *Zabrotes Subfasciatus* Conferida Pela Proteína Arcelina, Em Feijoeiro. . *Pesq. Agropec. Bras.Brasília.* , 35, 895-900.
- BARCO, M. J. M. 1998. La pimienta de Jamaica —*Pimenta dioica* (L.) Merrill, Myrtaceae— en la Sierra Norte de Puebla (México)
- BARRA, A., CORONEO, V., DESSI, S, CABRAS, P., Y ANGIIONI, A. 2007. Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *J. Agric. Food. Chem*, 55, 7093-7098.
- BAYER 2014. Plagas de productos almacenados.
- BEKELE, D. 2016. Bioactive Chemical Constituents from the Leaf of *Oreosyce africana* Hook.f (Cucurbitaceae) with Mosquitocidal Activities against Adult *Anopheles arabiensis*, the Principal Malaria Vector in Ethiopia.
- BERNARD, C. B., KRISHANMURTY, H. G., CHAURET, D., DURST, T., PHILOGENE, B. J. R., SANCHEZ-VINDAS, P., & ARNASON, J. T. 1995. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. . *Journal of Chemical Ecology*, 21(6), 801-814.
- BERRY, S. T., M. J. ROBERTS, AND W. SCHLENKER 2013. Corn Production shocks in 2012 and Beyond: Implications for harvest Volatility. *The Economics of Food Price Volatility*, 59-81.
- BOURGUET, D., GENISSEL, A., RAYMOND, M. 2000. Insecticide resistance and dominance levels. *Journals of Economic Entomology*, 1588-1595.
- BOUVIER, J. C., BUES, R., BOIVIN, L. B., BESLAY, D., SAUPHANOR, B. 2001. Deltamethrin resistance in the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): inheritance and number of genes involved. *Heredity*, 456-462.

- BRARI, J., & THAKUR, D. R. 2015. Insecticidal efficacy of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume and its two major constituents against *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.). . *Journal of Agricultural Technology*, 11(6), 1323-1336.
- CAÑIGUERAL, S., ARTECHE, A., VANACLOCHA, B. Y GUENECHEA, J. 1998. Fitoterapia: Concepto y límites. *Vademecum de Prescripción. Plantas Medicinales. Barcelona: Masson.* , 123-125.
- CASINI, C. Y. S., M. 2014. Control de plagas en granos almacenados.
- CASTILLO, J. 2006. ¿Qué es un insecto? . <http://www.monografias.com/trabajos15/insecto/insecto.shtml>.
- CHAUHAN, A., RANJAN, A., & JINDAL, T. 2018. Biological control agents for sustainable agriculture, safe water and soil health. . *Paradigms in Pollution Prevention Springer*, 71-80.
- CHU, S. S., LIU, S. L., JIANG, G. H., & LIU, Z. L. 2011. Composition and toxicity of essential oil of *Illicium simonsii* Maxim (Illiciaceae) fruit against the maize weevils. . *Rec. Nat. Prod*, 4(4), 205-210.
- CLEMENTE, S., MAREGGIANI, G., BROUSSALIS, A., MARTINO, V., FERRARO, G. 2003. Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 29, 1-8.
- COCA, R. V., TORRES, C. E., CHUQUILÍN, T. C. 2017. Extracción del aceite crudo de la semilla de lúcumo (*Pouteriao bovata*) mediante N-Hexano y Éter de petróleo. . *BIG BANG FAUSTINIANO*, 6(3), 42-44.
- COSIO, M. G. D. 1984. Especies vegetales de importancia económica en México, México D.F.
- DESCAMPS, L. R., REVIRIEGO, M. E., SUÁREZ, A. A., & FERRERO, A. A. 2004. Reproducción de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) y de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae) en cultivares de trigo argentinos. *Bol. San. Veg. Plagas*, 30, 171-176.
- EKEH, F. N., ODO, G. E., NZEI, J., NGOZI, E., OHANU, C., & ONUOHA, O. 2018. Efficacy of *Xylopia aethiopica* ethanolic and aqueous extracts on the control of *Sitophilus oryzae* in stored rice grain. . *African Journal of Agricultural Research*, 470-476.
- FEITÓ, C. M., CURBELO, G. M., COVAS-VARELA, D., Y BARRERA-GARCÍA, A. 2015. Control de la temperatura para la prevención de plagas poscosecha en la conservación de granos. *Revista Científica Ingeniería y Desarrollo*, 33(2), 216-237.
- FERNÁNDEZ-RUIZ, M., YEPES-FUENTES, L., TIRADO-BALLESTAS, I., & OROZCO, M. 2018. Actividad Repelente del aceite esencial de *Bursera* sp., Sarg, 1890, frente *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae). . *Anales de Biología* 40, 87-93.
- FLAY, C. D., WANG, Q., & HE, X. Z. 2014. Female reproductive fitness declines with increasing male density in the polyandrous weevil *Sitophilus oryzae*. . *Journal of insect behavior*, 27(2), 268-278.
- FLEITAS, D. G. 2007. Prueba de viabilidad y poder germinativo de la semilla de maíz
- FOUAD, H. A., & DA CAMARA, C. A. 2017. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). . *Journal of stored products research*, 73, 30-36.
- FUENTES FIALLO, V. R., LEMES HERNÁNDEZ, C. M., SÁNCHEZ PÉREZ, P., & RODRÍGUEZ FERRADÁ, C. A. 2000. Sobre la multiplicación de *Pimenta dioica* (L.) Merril. . *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 5(2), 51-55.

- GARCÍA, M., DONADEL, O. J., ARDANAZ, C. E., TONN, C. E. Y SOSA, M. E. 2005. Toxic and repellent effects of *Bacharis salicifolia* essential oil on *Tribulium castaneum*. *Pest Management Science*, 61, 612-618.
- GUERRA, C., MECCIA, G., KHOURI, N., ROJAS, L. 2003. Estudio comparativo de los aceites esenciales de *Callistemon speciosus* DC. recolectado en los Estados Carabobo, Lara y Mérida (Venezuela). *REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA* 45(2).
- HELENO, S. A., DIZ, P., PRIETO, M. A., BARROS, L., RODRÍGUEZ, A., BARREIRO, M. F. Y FERREIRA, I.C. F. R. 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. *Food Chemistry*, 197, 1054-1063.
- HERNÁNDEZ, D., L., RODRÍGUEZ JORGE, M., GARCÍA, D., & PINO ALEA, J. 2003. Actividad antidermatofítica in vitro de aceites esenciales. *Revista cubana de plantas medicinales*, 8(2).
- HONG, K. J., LEE, W., PARK, Y. J., & YANG, J. O. 2018. First confirmation of the distribution of rice weevil, *Sitophilus oryzae*, in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 11(1), 69-75.
- HWA-JEONG YEOM, J. K., SUNG-WOONG KIM, IL-KWON PARK. 2013. Fumigant and contact toxicity of Myrtaceae plant essential oils and blends of their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*) and their acetylcholinesterase inhibitory activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 107, 200-206.
- ISMAN, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19, 603-608.
- ISMAN, M. B. 2020. Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise. *Annual review of entomology*, 65, 1101-1117.
- ISMAN, M. B. Y. M., C. M. 2006. Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. *Naturally Occurring Bioactive Compounds, Elsevier, Amsterdam, Netherlands.*, 29-44.
- JEONG HONG, K. J., LEE, W., PARK, Y. J., & YANG, J. O. 2017. First confirmation of the distribution of rice weevil, *Sitophilus oryzae*, in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 11(1), 69-75.
- JIANG, Z. T., FENG, X., LI, R., & WANG, Y. 2013. Composition comparison of essential oils extracted by classical hydrodistillation and microwave-assisted Hydrodistillation from *Pimenta dioica*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1), 45-50.
- KANG, J. 2019. Activity of Nonacosane-10-ol and 23a-Homostigmast-5-en-3 $\beta$ -ol Isolated from the Roots of *Fumaria parviflora* (Fumariaceae).
- KARIOTI, A., SKAL TSA, H., & GBOLADE, A. A. 2007. Analysis of the leaf oil of *Syzygium malaccense* Merr. et Perry from Nigeria. *Journal of Essential Oil Research*, 19(4), 313-315.
- KHANIKOR, B., & BORA, D. 2011. Toxicity of essential oil compounds against *Exorista sorbillans* (Diptera: Tachinidae), a parasitoid of silkworm. *African Journal of Biotechnology*, 10(85), 19807-19815.
- KOUTSAVITI, A., ANTONOPOULOU, V., VLASSI, A., ANTONATOS, S., MICHAELAKIS, A., PAPACHRISTOS, D. P., & TZAKOU, O. 2018. Chemical composition and fumigant activity of essential oils from six plant families against *Sitophilus oryzae* (Col: Curculionidae). *Journal of pest science*, 91(2), 873-886.
- KRIER, J. 2020. Pesticide Screening List for Luxembourg *LUXPEST*

- KUMAR, N., GOVIND, S. KUMAR, V, P. 2018. A review on chemical constituents and pharmacological activities of *Callistemon citrinus*: an ornamental plant. . *Pharmacology on Line Newsletter* (1), 57-63.
- LEE, B. H., ANNIS, P. C., & CHOI, W. S. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against tree major stored-grain insects. . *Journal of Stored Products Research*, 40(5), 553-564.
- LINNAEUS, C. 1753. *Species Plantarum*.
- LIZANO CRUZ, I. 2013. *Efecto de la aplicación de los aceites esenciales extraídos a partir de las hojas de pimienta de Jamaica (Pimenta dioica), hojas de canela (Cinnamomum zeylanicum) y orégano (Oreganum vulgare) en la preservación de carne de res*. Proyecto de graduación CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO, San José, Costa Rica.
- LOZADA, S. 2015. Especies de la familia Myrtaceae, alternativa para el control de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). . *Tesis de Diploma, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias.* , 45.
- M., C. K. 2016. Insecticidal activities of *Cinnamomum tamala* (lauraceae) essential oil against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *int. J. Entomol. Res.* , 4(03), 91-98.
- MARTÍNEZ, A. 2003. Aceites esenciales. Universidad de Antioquia.
- MHALLA, D., FARHAT-TAUZRI, D. B., TRIGUI, M. 2018.
- MIDEGA, C. A. O., MURAGE, A.W., PITCHAR, J.O., KHAN, Z.R., 2016. Managing storage pests of maize: farmers' knowledge, perceptions and practices in western Kenya. . *Crop Protection*, 90, 142-149.
- MINAMI, K. 1999. Relatório do Estágio Supervisionado Produção Vegetal-II: manejo e produção de plantas medicinais e aromáticas. Universidad de Sao Paulo.
- MORENO, J. L., G.; SICHE, R. 2010. Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). *Scientia Agropecuaria* 1(2), 147-154.
- MUMTAZ, R., BILGRAMI, A. L., & ALDOSARI, S. A. 2013. Comparative toxicity of *Azadirachta indica* A. juss. and *Callistemon citrinus* DC against sugarcane stalk borer *Chilo auricilius* Dudgeon (Lepidoptera: Crambidae). . *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(36), 2645-2656.
- NATTUDURAI, G., BASKAR, K., PAULRAJ, M. G., ISLAM, V. I. H., IGNACIMUTHU, S., & DURAI PANDIYAN, V. 2017. Toxic effect of *Atalantia monophylla* essential oil on *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae*. . *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1619-1629.
- NENAAH, G. 2014. Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). . *Industrial Crops and Products* 53, 252-260.
- NOOSHIN ZANDI-SOHANI, M. H. Y. A. A. C.-B. 2015. Volatile Composition of the Essential Oil of *Callistemon citrinus* Leaves from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* [Online].
- ORTEGA, M., I, PÉREZ R.Y. 2016. Informe técnicos sobre el uso de plantas fitopláguicas en la provincia de Cienfuegos. . *Laprosav*, 28.
- OTERMIN, L. F. F. 2015. Insectos plaga en almacenaje de maíz: especies, cambios poblacionales y variación de la calidad comercial de los granos *Revista de la Facultad de Agronomía UNLPam.* , 25(2), 69-74.
- OVIDO, P, R. G.-O., L. 2015. Lista nacional de plantas invasoras y potencialmente invasoras en la República de Cuba. . *Bisseo* 9, 2, 1-88.
- PIEROZAN, M. K. P., G.F.; ROTA, L.; DOS SANTOS, A.; LERINI, L.A.; DI LUCCIO, M.; MOSSI, A.J.; ATTI-SERAFINI, C.L.; VLADIMIROLIVEIRA, J. 2009. Caracterização química e atividade

- antimicrobiana de óleos essenciais de distintas espécies de salvia L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(4), 764-770.
- PINO, J. A., & ROSADO, A. 1996. Chemical composition of the leaf oil of *Pimenta dioica* L. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 8(3), 331-332.
- PINO, O., SÁNCHEZ, Y., & ROJAS, M. 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.
- QUINTANA PINO, P. 2012. *Rendimiento, parámetros de calidad del aceite esencial obtenido de las hojas de Piper angustifolium var. ossanum C.DC.* Universidad de Cienfuegos.
- RAMÍREZ, S. 2005. Plantas con acción repelente e inhibitoria de la reproducción de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) (Coleoptera; Bruchidae). Tesis de Diploma. Facultad de Ciencias Agropecuarias. UCLV. Santa Clara, Villa Clara, Cuba: . 53.
- RAMOS, H., M, J, RODRÍGUEZ T., F, Y., Y PALMERO L. M. 2016. La fauna de insectos y ácaros asociados a almacenes de alimentos en la provincia de Sancti Spíritus. . *Fitosanidad* 20(1), 13-19.
- REGNAULT-ROGER, C., PHILOGENE, B. J. R., VINCENT, C. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. *Ed. Mundi-Prensa*, 337.
- RODRÍGUEZ, S. M., MOREIRA, M. I., JIMÉNEZ, R. A., RUSSO, S., MÁRQUEZ, A. M., RICCO, R. A., & WAGNER, M. L. 2008. Acción insecticida de extractos de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl.(Simaroubaceae) en el gorgojo del arroz, *Sitophilus oryzae* L.(Coleoptera, Curculionidae). . *Dominguezia*, 24(2), 95-102.
- SAAD, M. M., ABOU-TALEB, H. K., & ABDELGALEIL, S. A. 2018. Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. . *Applied entomology and zoology*, 53(2), 173-181.
- SABBOUR, M. A. 2015. A novel pathogenicity of nano- *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory and store conditions. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 6(11), 526-535.
- SALEEM, M. 2009. Acaricidal Activity of Lupeol from *Inula britannica* against *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). 281, 109-115.
- SÁNCHEZ, P., Y., CORREA VIDAL, T. M., ABREU MACHADO, Y., COTILLA PELIER, L., BERROA NAVARRO, G., & PINO PÉREZ, O. 2014. Composición química del aceite esencial de *Piper hispidum* Sw. y actividad antimicrobiana sobre *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson y *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson. . *Revista de Protección Vegetal*, 29(3), 185-191.
- SAVITHA, R. C., PADMAVATHY, S., & SUNDHARARAJAN, A. 2011. In vitro antioxidant activities on leaf extracts of *Syzygium malaccense* (L.) Merr and Perry. *Ancient Science of Life*, 30(4).
- SHAYYA, E., & RAFAELI, A. 2007. Essential oils as biorational insecticides—potency and mode of action. *Insecticides design using advanced technologies* 249-261.
- SHRESTHA, S., POUDEL, A., SATYAL, P., DOSOKY, N. S., CHHETRI, B. K., & SETZER, W. N. 2015. Chemical composition and biological activity of the leaf essential oil of *Callistemon citrinus* from Nepal. *Am J Essent Oils Nat Prod*, 2, 29-33.
- SONG, J. E., KIM, J. M., LEE, N. H., YANG, J. Y., & LEE, H. S. 2016. Acaricidal and insecticidal activities of essential oils against a stored-food mite and stored-grain insects. . *Journal of food protection*, 79(1), 174-176.

- SOUSA DE ALENCAR SILVA, T. S., NASCIMENTO, J. E. C., PORSANI, M. V., GIACOMIN, L. L., POLTRONIERI, A. S., ZAWADNEAK, M. A. C., & BARATTO, L. C. 2017. Potencial inseticida de plantas medicinais encontradas na Amazônia Central contra o pulgão-da-couve *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphididae). *Entomo Brasiliensis*, 10(2), 106-111.
- SOUZA TETTE P, R. G. L., DE ABREU GLÓRIA M & FERNANDES C. 2016. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*, 149, 124-141.
- STEWART, T. M. A., LOWE, H. I., & WATSON, C. T. 2016. Quantification and characterization of *Pimenta dioica* (Allspice) essential oil extracted via hydrodistillation, solvent and super critical fluid extraction methodologies. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 4(3), 27-30.
- TEFERA, T. 2012. Post-harvest losses in African maize in the face of increasing food shortage. *Food security*, 267-277.
- TEWARI, H., JYOTHI, K. M., KASANA, V. K., PROSAD, A. R., PROSUNA, A.L. 2015. artículo Insect attractant and oviposition enhancing activity of hexadecanoic acid ester derivatives for monitoring and trapping *Caryedon serratus* 61, 32-38.
- TILAHUN, B., & HUSSEN, A. 2014. Assessment of pesticide use, practice and risk in gedeo and borena zones; Ethiopia. *International Journal of Environment*, 201-209.
- TORRES. C, S. G., TAPIA. M, RODRÍGUEZ. JC, URBINA. A, FIGUEROA. L, LAGUNES. A, SANTILLAN-ORTEGA. C, ROBLES-BERMEDEZ. A, AGUILAR-MEDEL. S, 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 14(1), 48-59.
- TRAMPE, J. D. J. L., & MORALES, F. 2017. Uso de los aceites esenciales en el control de plagas. *Artrópodos y Salud Ene.-Jun.*, 7(1), 44-53.
- VALDÉS, H. R., POZO V.E., GUERRA, B. Y., Y CÁRDENAS M, M. 2008. Comportamiento de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera; Curculionidae) en granos almacenados *Centro Agrícola*, 35(3), 37-41.
- VÁZQUEZ, L. L. 2010. Una visión entomológica de la introducción del maíz transgénico FR Bt 1 en Cuba. *Transgénicos.*, 159-188.
- VELÁZQUEZ, Y. 2012. *Tamizaje fitoquímico de *Agdestis clematidea* Moç. et *Sessé ex DC.** Trabajo de Diploma, Universidad de Granma.
- VOGEL, H., RAZMILIC, I., & DOLL, Y. U. 1997. Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblacionales de boldo (*Peumus boldus* Mol.). *Ciencia e investigación agraria*, 24(1), 1-6.
- WU, X. F., P. YAN 2018. Distribution of the Related Weevil Species *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in Farmer Stored Grains of China. *Journal of Economic Entomology*, 1461-1468.
- ZAGHLOUL, O. A., EL-KADY, M. B., EL-WAKIL, H. F., AHMED, S. M. S., & MACKLED, M. I. 2012. Biological and genetical studies on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Curculionidae: Coleoptera), in Egypt. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 8(2), 92-97.
- ZUNJARE, R., HOSSAIN, F., MUTHUSAMY, V., JHA, S. K., KUMAR, P., SEKHAR, J. C., & GUPTA, H. S. 2016. Genetic variability among exotic and indigenous maize inbreds for resistance to stored grain weevil *Sitophilus oryzae* L. infestation. *Cogent Food & Agriculture*, 113-156.