

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS
Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos

**EFFECTO DE TRES ACEITES ESENCIALES SOBRE LA CALIDAD DEL
GRANO DE MAÍZ *Zea mays* (Linnaeus) DURANTE SU
ALMACENAMIENTO Y SOBRE LA MORTALIDAD Y REPELENCIA DE
Sitophilus zeamais (Motschulsky)**

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

Presenta:

Biotec. Francielli Regina Costa Becheleni

Hermosillo, Sonora.

Agosto, 2019.

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**

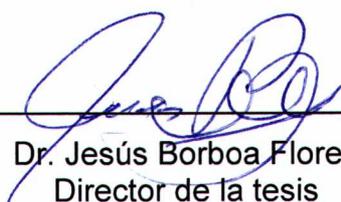


Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

EFFECTO DE TRES ACEITES ESENCIALES SOBRE LA CALIDAD DEL GRANO DE MAÍZ *Zea mays* (Linnaeus) DURANTE SU ALMACENAMIENTO Y SOBRE LA MORTALIDAD Y REPELENCIA DE *Sitophilus zeamais* (Motschulsky)

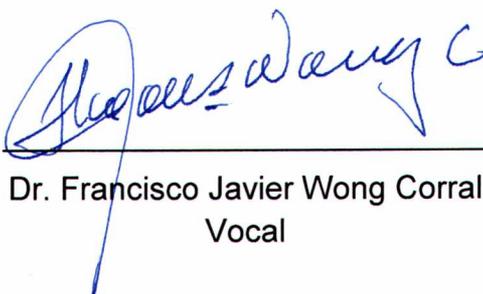
Francyelli Regina Costa Becheleni



Dr. Jesús Borboa Flores
Director de la tesis



Dra. Carmen Lizette Del Toro Sánchez
Secretaria



Dr. Francisco Javier Wong Corral
Vocal



MC. María del Refugio Robles Burgueño
Vocal

DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Ciencias de los Alimentos** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador del Programa del Posgrado.

Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente


Biotec. Francielli Regina Costa Becheloni
Autor


Dr. Francisco Rodríguez Félix
Coordinador del Programa de Posgrado

Hermosillo, Sonora.

Agosto, 2019.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios, por estar siempre presente en mi vida iluminando y guiándome por un buen camino, dándome fuerza para seguir adelante y no desistir en medio de tantos problemas que se presentaban, enseñándome a encarar todas las situaciones sin perder la voluntad de vencer.

A toda mi familia, en especial a mis padres Sonia y Gilberto y a mis hermanos Lucas y Thiago, que siempre me han apoyado. Gracias por el amor incondicional y por hacer lo posible e imposible para que yo realizara más este sueño.

A mi novio Alan, gracias por todo amor, cariño y dedicación, incluso llegando al final de esa trayectoria y dividiendo nuestros espacios entre los estudios me ha brindado momentos muy especiales.

A la Universidad de Sonora (UNISON), por la oportunidad de estudio. Gracias por proporcionar un ambiente saludable para todos, además de estimular la interacción y la participación en las actividades académicas. Mi agradecimiento a todo el cuerpo docente, a la dirección y administración de esa institución.

Al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA), por la oportunidad de desarrollar la presente investigación, proporcionándome todas las herramientas necesarias para mi formación profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante mis estudios.

A mi director de tesis el Dr. Jesús, un agradecimiento especial por la orientación, la confianza, la oportunidad, el apoyo, la paciencia, por sus consejos, por su sabiduría y por conocimientos transmitidos durante estos dos años. Gracias por brindarme la oportunidad de realizar este estudio.

A los miembros de mi comité de tesis la Dra. Carmen, Dr. Francisco y MC. María por la dedicación, paciencia y confianza, sobre todo agradezco por todos los conocimientos compartidos.

A todos los maestros que me compartieron sus conocimientos en clases y fuera de las aulas, a los Doctores y Doctoras: José Luís, Ofelia, Maribel Plascencia, Maribel Robles, Miroslava, Oliviert.

Un agradecimiento especial a Coty y a todo el personal del sector administrativo del DIPA por siempre recibirme con una sonrisa y hacer de todos mis días el mejor posible.

A mis compañeros de clase: Fernanda, Sol, Eduardo, Oscar, Samara, Isabel, José Luís, Karen, Anais, Lucinda, Maribel y Daniel por el convivio durante estos dos años, por el intercambio de experiencias y conocimientos.

A los compañeros del Laboratorio de Entomología: Cristhian, Alejandra, Diana, Deisi, Roxana, Jechua y Kimberly. Gracias por la amistad, el apoyo en el laboratorio y por tornar alegre el día a día.

A los compañeros del Laboratorio de Biotecnología: Ricardo y Liliana por compartieren sus conocimientos y por el apoyo y ayuda en el laboratorio.

Un agradecimiento a todos mis amigos de Brasil que mismo por la distancia siempre si mantuvieron en contacto y a los de México que conocí durante mi estancia en Hermosillo.

*“Confía en la espera.
Abraza la incertidumbre.
Disfruta la belleza del devenir.
Cuando nada es seguro,
todo es posible.”
(Mandy Hale).*

DEDICATORIA

Con todo mi grande amor y cariño,

Este momento, no debe ser entendido como el final de un camino de dos años, porque en realidad, lo que contribuyó a este trayecto empezó mucho antes, con una joven y un sueño.

En primer lugar, quiero dedicar esta tesis a mis **padres**, Sonia y Gilberto, que con su empeño y amor incondicional hacen de mí una persona responsable y dispuesta a alcanzar mis sueños. Gracias por los consejos, la presencia constante, por todo el amor y por no medir esfuerzos, además, si no fuera por el apoyo, no podría haber llegado a esta etapa de mi vida y lograr más este sueño. También me gustaría dedicar a mis **hermanos** Lucas y Thiago, que a pesar de la distancia siempre se mantuvieron presentes.

¡Ustedes siempre creyeron en mí!

RESUMEN

El gorgojo *Sitophilus zeamais* (M.), es una plaga primaria que perjudica la calidad de los granos de maíz durante su almacenamiento. Actualmente el método de control de este insecto es el químico, pero debido al uso indiscriminado de los insecticidas y fumigantes como la Fosfina esta plaga ha incrementado su resistencia, por lo que se buscan nuevas alternativas de control como lo son el uso de aceites esenciales (AE). Estudios recientes indican que los compuestos químicos de las plantas actúan sobre la biología del insecto y protegen la calidad del grano cuando son tratados por aspersión directa. Por lo que en esta investigación se planteó evaluar los AE de Niaouli (*M. quinquenervia*), Eucalipto (*E. globulus*) y Orégano (*O. vulgare*) en el control de *S. zeamais* y en la calidad del grano de maíz almacenado, mediante el uso de saturación de atmósferas utilizando volúmenes de 0, 100, 200 y 300 μL a tiempos de exposición de 24, 48 y 72 h. Las variables respuestas evaluadas de los ensayos entomológicos fueron: porcentajes de mortalidad, emergencia, repelencia y concentraciones letales CL_{50} y CL_{99} , mientras que los ensayos de calidad del grano fueron: porcentajes de germinación y vigor, contenido de fenoles y flavonoides totales y porcentaje de inhibición por los métodos DPPH y ABTS. En el volumen de los AE de Eucalipto y Niaouli a 100 μL en 24 h se obtuvo 100% de mortalidad, sin embargo, con el AE de Orégano en el mismo volumen y tiempo de exposición no se logró el 100% en esta prueba, presentando solo 30%, mientras que en este mismo ensayo se logró el 100% de control conforme aumentaba los tiempos de exposición y volúmenes. No se presentó nueva progenie (F1) de insectos en los tratamientos con los AE, observándose emergencia solamente en los controles. Se observaron índices de repelencia significativos sobre *S. zeamais* en la mayoría de los tratamientos con los AE. Las CL_{50} y CL_{99} calculadas para el AE de Orégano a las 24 h fueron de 316 y 416 $\mu\text{L/L}$ y a las 48 h fueron de 478 y 687 $\mu\text{L/L}$. La germinación del maíz se vio afectada con los AE de Orégano a los 300 μL y Niaouli a los 200 y 300 μL , estadísticamente el AE de Eucalipto no se vio afectado comparado con el control. Los tres AE afectaron el vigor del maíz observándose un crecimiento desfavorable de las plantas. Como agente

antioxidante el AE de Orégano en todos los métodos aplicados presentó los mejores resultados en comparación con los demás AE. Finalmente, se concluye que los tres AE actuaron como insecticidas y repelentes de *S. zeamais* y en la calidad del grano de maíz sobre la germinación y vigor los volúmenes menores afectan en menor medida estos parámetros.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix/x
LISTA DE TABLAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
Estructura Anatómica y Composición Química del Maíz.....	4
Clasificación Taxonómica del Maíz.....	6
<u>Compuestos Nutraceuticos en la Prevención de Enfermedades</u> ...	7
<i>Actividad Antioxidante</i>	9
<i>Fenoles y Flavonoides Totales</i>	11
<i>DPPH y ABTS</i>	12
Producción de Maíz en el Mundo.....	14
Producción de Maíz en México.....	15
Producción de Maíz en el Estado de Sonora.....	17
Almacenamiento de Grano de Maíz.....	18
Plagas de Insectos en Granos Almacenados.....	21
Ciclo biológico de <i>Sitophilus zeamais</i>	22
<u>Clasificación Taxonómica de <i>Sitophilus zeamais</i></u>	24
Métodos de Control de Plagas en Granos Almacenados.....	26
Aceites esenciales.....	27
<u>Familia Lamiaceae y Myrtaceae</u>	29
<i>Clasificación Taxonómica del Orégano</i>	30
<i>Clasificación Taxonómica del Eucalipto</i>	31
<i>Clasificación Taxonómica del Niaouli</i>	32
Compuestos Químicos de los Aceites Esenciales.....	33
Efecto de los Aceites Esenciales sobre los Insectos.....	35
HIPÓTESIS	38
OBJETIVOS	39
Objetivo General.....	39
Objetivos Particulares.....	39
MATERIALES Y MÉTODOS	40
Materia Prima.....	40
Obtención de Aceites Esenciales.....	40
Obtención de Maíz.....	40
Obtención de Insectos.....	40
Identificación de <i>S. zeamais</i>	41
Cultivos Patrones de <i>S. zeamais</i>	41
Pruebas Entomológicas.....	42
Exposición de <i>S. zeamais</i> a los Aceites Esenciales.....	42
<u>Determinación de la Mortalidad</u>	42
<u>Determinación de la Emergencia</u>	43
<u>Determinación de la Repelencia</u>	43

<u>Determinación de las Dosis Letales CL₅₀ y CL₉₉.....</u>	44
Pruebas de Calidad.....	45
Exposición del Maíz a los Aceites Esenciales.....	45
<u>Determinación de la Germinación y Vigor.....</u>	45
<u>Determinación de la Actividad Biológica.....</u>	46
<i>Obtención de la Harina de Maíz.....</i>	46
<i>Obtención de los Extractos y Muestras de Maíz.....</i>	47
<u>Cuantificación de Fenoles y Flavonoides Totales.....</u>	49
<u>Cuantificación de Antioxidantes por el Método de DPPH y ABTS..</u>	50
Diseño Experimental.....	52
Pruebas Entomológicas.....	52
Pruebas de Calidad.....	52
Análisis Estadístico.....	52
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	53
Pruebas Entomológicas.....	53
Porcentaje de Mortalidad de <i>S. zeamais</i>	53
Porcentaje de Emergencia de <i>S. zeamais</i>	58
Índice de Repelencia de <i>S. zeamais</i>	61
Estimaciones de las Dosis Letales CL ₅₀ y CL ₉₉	65
Pruebas de Calidad.....	68
Porcentaje de Germinación.....	68
Porcentaje de Vigor.....	71
Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales.....	75
Contenido de Antioxidantes Método de DPPH y ABTS.....	79
CONCLUSIONES.....	82
RECOMENDACIONES.....	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Principales países consumidores de maíz 2006/07 - 2016/17.....	3
2	Anatomía del grano de maíz y sus partes constituyentes.....	5
3	Características de <i>Zea mays</i> (Linnaeus).....	6
4	Mecanismo de donación de electrones por antioxidantes.....	10
5	Producción mundial del maíz (MMt) 2006/07 - 2016/17.....	14
6	Producción de maíz grano (MMt) en México por tipo 2005 - 2015	16
7	Producción de maíz por ciclo comercial (MMt)	16
8	Principales estados productores de maíz grano en México.....	17
9	Almacenes de maíz en el estado de Sonora.....	20
10	Ciclo biológico del insecto <i>S. zeamais</i> (Mots.).....	23
11	Estadios larvarios, pupa y adulto de <i>S. zeamais</i> (Mots.).....	24
12	Técnica de hidrodestilación con equipo Clevenger.....	27
13	Localización de los aceites esenciales.....	28
14	Características del árbol de <i>Origanum vulgare</i>	30
15	Características del árbol de <i>Eucalyptus globulus</i>	31
16	Características del árbol de <i>Melaleuca quinquenervia</i>	32
17	Metabolitos secundarios inducidos en la defensa de plantas...	33
18	Producción de metabolitos secundarios.....	34
19	Estructura química del monoterpeno 1,8 cineol.....	36
20	Mecanismo de acción de los aceites esenciales.....	37
21	Curva de calibración del ácido gálico para la cuantificación de los fenoles totales por Folin-Ciocalteu.....	75
22	Curva de calibración de la quercetina para la cuantificación de los flavonoides totales por Método Colorimétrico.....	77

LISTA DE TABLAS

TABLA	Página
1	8
Nutracéuticos asociados con el maíz.....	
2	15
Producción nacional de maíz grano (MMt) 2005 - 2015.....	
3	25
Insectos que dañan a los cultivos y granos de maíz almacenados.	
4	47
Peso total seco de las harinas de maíz.....	
5	48
Porcentaje de rendimiento de los extractos secos de maíz.....	
6	54
Porcentaje de mortalidad de <i>S. zeamais</i> en maíz expuestos a los aceites esenciales.....	
7	59
Porcentaje de emergencia de <i>S. zeamais</i> en maíz expuestos a los aceites esenciales.....	
8	64
Índices de repelencia de <i>S. zeamais</i> en maíz expuestos a los aceites esenciales.....	
9	65
Toxicidad del aceite esencial de Orégano por saturación de atmósfera contra <i>S. zeamais</i> en granos de maíz a diferentes tiempos de exposición.....	
10	69
Porcentaje de germinación de maíz expuestos a los aceites esenciales.....	
11	72
Porcentaje de vigor de maíz expuesto al aceite esencial de Niaouli.....	
12	72
Porcentaje de vigor de maíz expuesto al aceite esencial de Eucalipto.....	
13	73
Porcentaje de vigor de maíz expuesto al aceite esencial de Orégano.....	
14	76
Cuantificación de los fenoles totales de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por Folin-Ciocalteu.....	
15	78
Cuantificación de los flavonoides totales de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por Método Colorimétrico.....	
16	79
Porcentaje de inhibición de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por DPPH.....	
17	80
Porcentaje de inhibición de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por ABTS.....	

INTRODUCCIÓN

La importancia de conservar los productos alimenticios y granos almacenados requiere cuidados por el hombre, pues debido al crecimiento de la población se busca asegurar el abastecimiento de alimentos con una excelente calidad, necesitando de procedimientos eficaces y estructurados de conservación (Pereira, 2006), además, los agricultores deben estar atentos a la observación y regulación de los factores físicos como temperatura, humedad, oxígeno y las condiciones del grano como la limpieza, aireación y monitoreo (Blanco Valdes *et al.*, 2016) para no afectar el crecimiento y la producción controlando o minimizando esos daños y haciendo importante el estudio para disminuir las pérdidas en postcosecha (Carvalho *et al.*, 2017).

La técnica de almacenaje de granos se constituye como una de las más importantes en la producción de todo tipo de cereal, siendo realizada de forma correcta evita perjuicios como el deterioro (Silva *et al.*, 2015). El propósito principal de este proceso es conservar los granos en condiciones adecuadas, con el intuito de preservar la calidad hasta a su consumo (Silva & Silva, 2015; Santos & Chavaglia, 2017).

El productor al almacenar los granos enfrenta un gran problema de elevadas pérdidas económicas en su cosecha por la destrucción de su producto debido a la presencia de hongos y roedores. Otro factor considerado desfavorable y de alta participación es la incidencia de insectos plagas, siendo uno de los principales responsables que interfieren en la calidad y afectan la producción alimentaria (Lima Jr *et al.*, 2012; Antunes & Dionello, 2017). Destaca en importancia económica *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885), como la principal plaga de los cultivos de maíz, debido a los daños que provocan en sus productos (Elias *et al.*, 2009). Es una plaga primaria y ha sido encontrada y ampliamente distribuida en regiones subtropicales y tropicales del mundo, pertenece al orden Coleoptera y familia Curculionidae (Assis *et al.*, 2014).

Por lo anterior, para controlar esta plaga de almacén y preservar los granos almacenados se han empleado los insecticidas químicos y fumigantes como la Fosfina PH_3 (Florão *et al.*, 2004; Faroni & Silva, 2008; Docampo *et al.*, 2014), siendo muy efectiva contra los insectos por su amplio espectro de acción principalmente en los estadios larvario y de pupa (Florão *et al.*, 2004). Ya que se utiliza en grandes cantidades, la principal desventaja es debido a la composición química y tóxica por la hidrólisis de fosfuros metálicos (Zn_3P_2 , Mg_3P_2 , AIP) al cual se obtiene la fosfina pura (Docampo *et al.*, 2014) que presenta sobre todo los riesgos graves al medio ambiente (no se degrada fácilmente y se acumula) y también causa daño a la salud de agricultores (Campanini *et al.*, 2012; Finkler, 2013).

Los ataques constantes de estos insectos han obligado a buscar nuevas alternativas de control, mediante la utilización de productos naturales derivados de vegetales, para ayudar a la disminución de riesgos ambientales y sociales provocados por este corriente modelo de producción agrícola y controlar los efectos generados por ello, por lo cual, es importante la búsqueda y adopción de prácticas sostenibles de control que permitan reducir el uso indiscriminado de agrotóxicos o compuestos químicos de alta toxicidad e innovar con otras alternativas, que presenten la misma eficacia, pero sin los efectos negativos como son los productos de origen biológica (Pessoa *et al.*, 2014).

Los aceites esenciales pueden ser una alternativa a los químicos utilizados, ya que se ha demostrado su efecto en diferentes plagas de insectos y además es de origen natural. Por lo anterior, con el propósito de obtener información e implementar un protocolo sustentable para el control de *S. zeamais* en condiciones controladas de conservación, en esta investigación se pretende conocer si los diferentes aceites esenciales causan mortalidad, emergencia, repelencia y efecto anti alimentario en poblaciones de insectos adultos sin afectar la calidad del grano de maíz durante su almacenamiento.

ANTECEDENTES

El cultivo de maíz *Zea mays* (Linnaeus) pertenece a la familia Poaceae, es uno de los cereales más relevantes en los diversos sectores de la agricultura de todo el mundo, siendo ampliamente cultivado y poseyendo características ambientales diversas (Mondo & Cicero, 2005; Pavão & Filho, 2011; Álvarez-Buylla & Piñeyro, 2013; Pinto *et al.*, 2015; Araújo, 2015). En los últimos años su demanda en la producción se ha incrementado debido al aumento de la población (Cervantes *et al.*, 2013). Los 8 mayores consumidores de maíz en el mundo son Estados Unidos con un consumo estimado en el ciclo de 2016/2017 de 312.4 millones de toneladas, seguido por China (226.0), Unión Europea (738.0), Brasil (580.0), México (375.0), India (273.0), Japón (151.0) y Egipto (150.5), (Figura 1), (USDA, 2016).

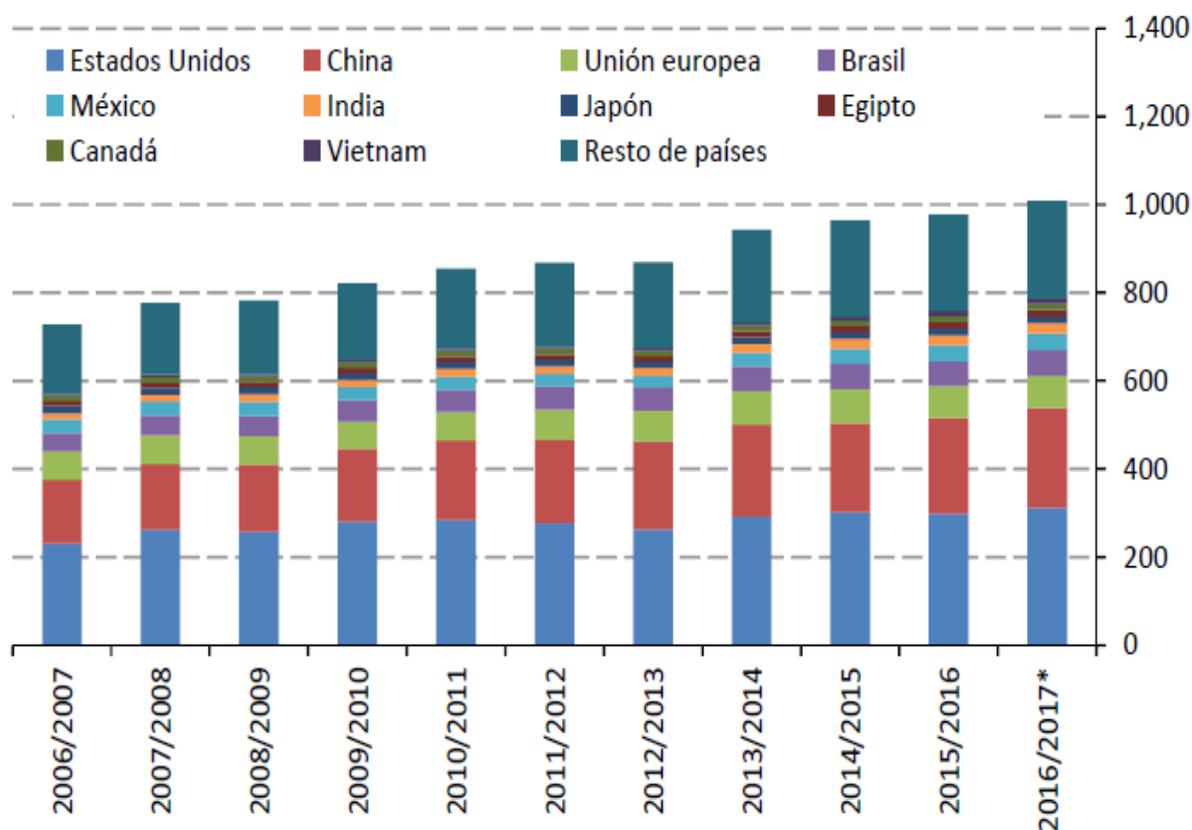


Figura 1. Principales países consumidores de maíz 2006/07 - 2016/17. (Fuente: Panorama Agroalimentario, Maíz, USDA, 2016). *Estimado.

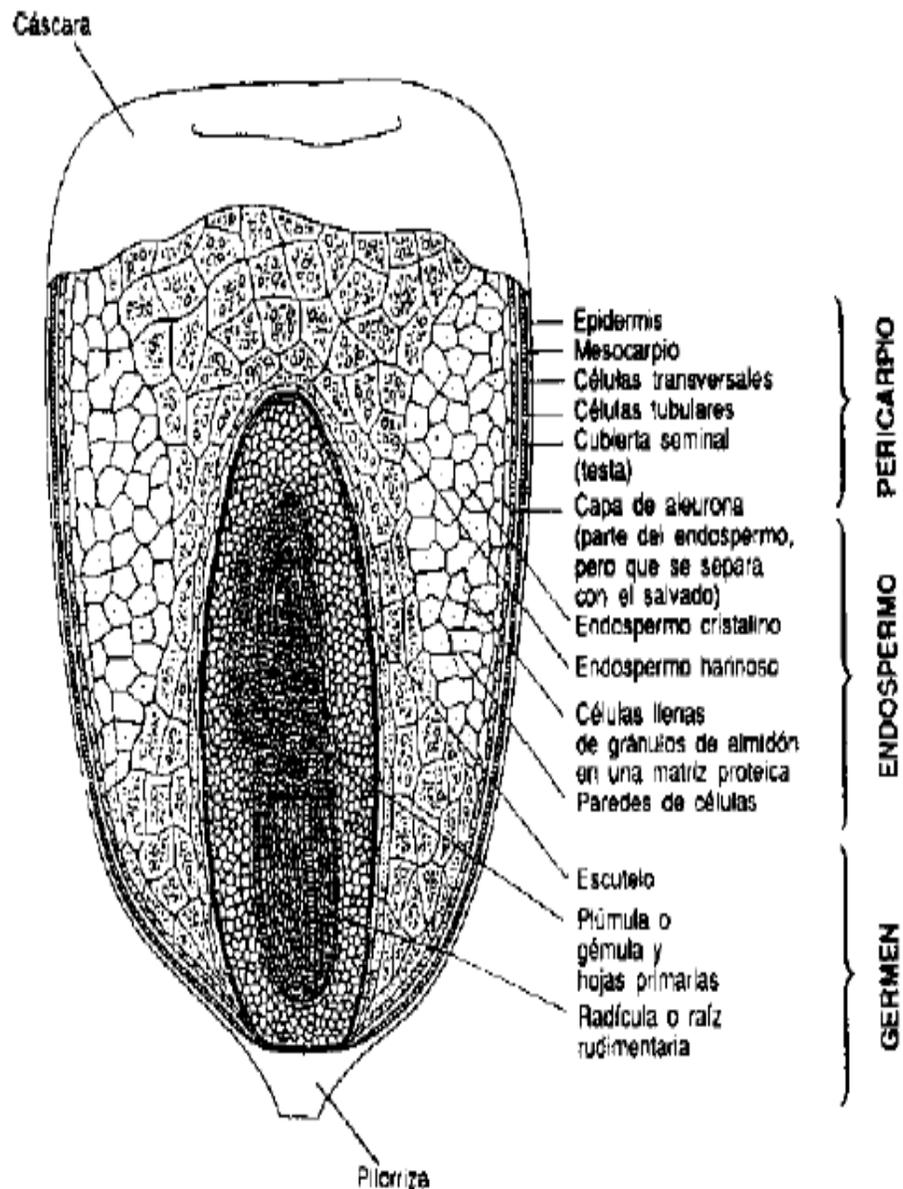
En estudios moleculares realizados por (Doebley, 1990), en el ADN evidencian que este cereal tiene su origen en México y desde entonces representa uno de los alimentos básicos en la alimentación de la población mexicana por su consumo directo humano, una de las razones es que a través de la harina se elaboran productos tradicionales como el pan y las tortillas (Román *et al.*, 2013; Fernández Suárez *et al.*, 2013). Según (SAGARPA, 2017) en la elaboración de estos productos el maíz blanco representa un consumo promedio al año de 196.4 kg con un 20.9% destinado a la preparación de las tortillas. Esto se debe a su alto contenido energético proporcionando compuestos esenciales y una buena aportación nutricional a la salud, que incluye los aminoácidos, vitaminas, sales minerales, fitoquímicos, fibras dietéticas, aceites y antioxidantes (Castañeda-Sánchez, 2011; Becheleni & Campolino, 2017).

Estructura Anatómica y Composición Química del Maíz

Los granos de maíz son muy diversificados en variedades y colores. El peso de los granos en manera individual varía entre 250 a 300 mg, y la composición media de la base seca corresponde a 72% de almidón (principal constituyente), seguido por 10% de proteínas, 9% de fibras y 4% de aceites (Paes, 2006). El grano de maíz se divide en cuatro estructuras físicas principales, que difieren en composición química y sobre la organización dentro del grano, (Figura 2), Institute, W.F. (1964).

1. Pericarpio: capa externa firme y fibrosa que rodea al grano y sirve de protección al embrión, representa en promedio el 5% del grano, también posee el papel de defensa a organismos externos como hongos, bacterias e insectos. Los componentes principales del pericarpio son polisacáridos del tipo hemicelulosa 67%, celulosa 23% y lignina 0.1%. 2. Endospermo: representa la principal fuente energética, con aproximadamente el 82% del peso total de los granos. Está compuesta por 88% de almidón, 8% de proteínas de reservas (zeínas) y otros compuestos como aceites y minerales. 3. Germen: corresponde al 11% del peso total de los granos. Tiene importancia dos partes principales: el eje embrionario donde se emerge nuevas plantas y el escutelo que representa fuentes de aceites y vitamina E 83%, minerales 78%,

proteínas 26% y azúcares 70%. 4. Pedicelo: tejido que une el grano al carozo de la mazorca (Paes, 2006; Doria, 2010; Oliveira, 2013).



(Facilitado por el Wheat Flour Institute, Chicago, Illinois, 1964)

Figura 2. Anatomía del grano de maíz y sus partes constituyentes. (Fuente: Institute, W.F. (1964). Chicago, Illinois).

Clasificación Taxonómica del Maíz

Reino: Planta

Filo: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Género: *Zea*

Especie: *Z. mays*

Nombre científico: *Zea mays* (Linnaeus, 1753)

Nombres comunes: Maíz, Elote, Mijo (Figura 3).



Figura 3. Características de *Zea mays* (Linnaeus).

(Fuente: <https://www.lavanguardia.com/vivo/ecologia/20170326/421205081394/maiz-cereal-alimentacion-antioxidantes-hidratos-energia-gluten.html>).

Compuestos Nutraceuticos en la Prevención de Enfermedades

Los nutraceuticos son utilizados como suplementos alimenticios dieteticos para el tratamiento o prevencion de enfermedades crónico-degenerativas (Cruzado & Cedron, 2012). Son clasificados a traves de sus propiedades quimicas y actividad biologica como las sustancias naturales bioactivas presentes en los alimentos, altamente favorables para la salud, (Tabla 1), (Serna-Saldivar *et al.*, 2013).

Actualmente el maiz ha sido estudiado debido a los numerosos compuestos fitoquimicos, a los cuales se les atribuye propiedades nutraceuticas (Vivanco *et al.*, 2005; Xochitl & Ramiro, 2010; Hurtado & Mata, 2011; Sotomayor, 2013; Gallegos *et al.*, 2013; Estacio & Haydeli, 2013; Guillen-Sanchez *et al.*, 2014). Algunos compuestos fitoquimicos poseen un gran valor y son capaces de prevenir y tratar muchas enfermedades como: cancer, alto colesterol, enfermedades cardiovasculares, arteriosclerosis, envejecimiento, refuerzan el sistema inmunologico, mejora la funcion gastrointestinal, reduce el indice glicemico y diabetes, leucemia, cancer de mama y prostata, sarcomas, reduce el triglicéridos y colesterol sanguineo, previene abortos, entre otros.

Tabla 1. Nutracéuticos asociados con el maíz (Fuente: Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

Familia	Clase
Fenólicos	Simplees como el ácido ferúlico
Antocianinas y Flavonoides	Antocianinas, flavonoles
Carotenoides	Carotenos y Xantofilas: luteína, zeaxantina, criptoxantina
Fitoesteroles	Sitosterol, estigmasterol, campesterol
Fibras	Solubles como arabinoxilanos y hemicelulosas e Insolubles como celulosa y lignina
Ácido fítico inositol	Inositol
Ácidos grasos polinsaturados	Acidos linoleico (18:2 ω 6) y linolénico (18:3 ω 3)
Fosfolípidos	Fosfatidil: colina, etanolamina, inositol y serina
Vitaminas	Tocoferoles y Ácido fólico
Policosanoles o ceras	Octacosanol, tricontanol, hexacosanol, dotriacontanol

Actividad Antioxidante

Los antioxidantes son muy importantes en la bioquímica, biología y medicina, debido a la prevención y tratamiento de varias enfermedades. También poseen un papel muy importante al evitar el estrés oxidativo que son provocados por los radicales libres, que se conocen como especies químicas reactivas del oxígeno o de nitrógeno o prooxidantes: Radical hidroxilo (OH^\bullet), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), Anión superóxido (O_2^\bullet), Oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), Óxido nítrico (NO), Peróxido (ROO), Semiquinona (Q) y Ozono (O_3), que en su estructura atómica presentan un electrón negativo desapareado en su camada de valencia presentando una inestabilidad (Venereo Gutiérrez, 2002).

Los radicales libres son clasificados como pequeñas moléculas producidas durante reacciones metabólicas presentando un gran potencial reactivo y provocando daños celulares, el llamado estrés oxidativo, e interactúan con las principales biomoléculas del organismo, como son los lípidos, donde se tiene el mayor daño, debido a la peroxidación lipídica, afectando a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados que alteran la permeabilidad de las membranas celulares produciendo edemas y la apoptosis. En las proteínas causan oxidación de aminoácidos como la tirosina, histidina, fenilalanina, metionina y también se forma entrecruzamientos péptidos y formación de grupos carbonilo y el ADN: presentando carcinogénesis, mutaciones, modificaciones oxidativas en las bases nitrogenadas (Adenina, Timina, Citosina y Guanina), deleciones, fragmentaciones, pérdida de expresión genética por daños a genes específicos, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan los genes (Elejalde Guerra, 2001).

Cuando si tiene el exceso de los radicales libres en el organismo puede desencadenar o contribuir para el surgimiento de las enfermedades crónico-degenerativas, como: envejecimiento, aterosclerosis, cáncer, cataratas, insuficiencia renal aguda,

insuficiencia renal crónica, diálisis, diabetes, hipertensión arterial, cirrosis hepática, insuficiencia hepática, hepatopatía alcohólica entre otras (Elejalde Guerra, 2001).

Según la FAO, los antioxidantes son clasificados como sustancias presentes en los alimentos que disminuyen los efectos adversos de los radicales libres que dañan las células. También la FDA los define como los suplementos alimenticios que se deben tomar además del consumo normal de alimentos en un esfuerzo por prevenir ciertas enfermedades, también si pueden añadirlos a los alimentos como una forma de conservantes. Las mejores fuentes de antioxidantes son: Vitamina C, Vitamina E, Betacaroteno, Astaxantina, Coenzima Q10, Glutación, Resveratrol, Ácido alfa lipoico, Melatonina, Té verde, entre otros.

Los antioxidantes cumplen su papel vital en el organismo como eliminadores “*scavengers*” de los radicales libres cediendo a ellos su electrón, para estabilizarlos y oxidarlos, (Figura 4), esto si puede realizar mediante transferencia de electrones, remoción de iones hidrógeno y adición de especies radicales. Por esta razón, ya que oxidan al neutralizar los radicales libres, se torna importante la reposición en la dieta, mediante la ingesta de alimentos ricos en compuestos antioxidantes como: frutas, vegetales, cereales, nueces, entre otros (Venereo Gutiérrez, 2002).

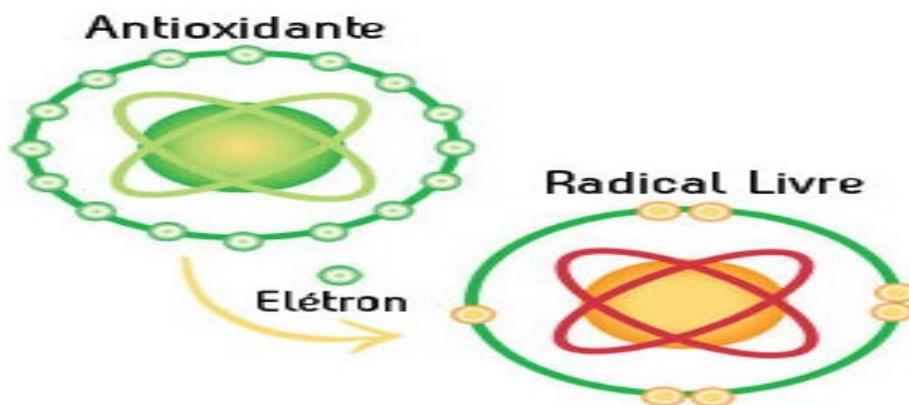


Figura 4. Mecanismo de donación de electrones por antioxidantes. (Fuente: envelhecereser.wordpress.com., 2016).

Fenoles y Flavonoides Totales

Los compuestos fenólicos se clasifican como moléculas que en su estructura química presentan uno o más grupos de hidroxilo (-OH) unidos a un anillo aromático en sus formas simples o de polímeros, que les confiere el poder antioxidante. Tienen su origen del metabolismo secundario de las plantas englobando desde moléculas simples hasta moléculas con alto grado de polimerización (Peñarrieta *et al.*, 2014). Están presentes en las especies vegetales en su forma libre o ligados a azúcares (glicosídicos) y proteínas (Bravo, 1998; Naczki & Shahidi, 2004; Rappoport, 2004; Lee *et al.*, 2005; Angelo & Jorge, 2007; Rodríguez 2017). Entre los fenólicos se destacan como los más comunes antioxidantes de fuente natural los ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y tocoferoles (King & Young, 1999).

Los fenoles pertenecen a dos grupos: derivados del ácido hidroxibenzoico y derivados del ácido hidroxicinámico. Uno de los ácidos fenólicos hidroxibenzoicos naturales más comunes son el gálico este presenta alta solubilidad en agua, bajo costo y fácil disponibilidad comercial y se ha empleado como estándar en las curvas de ensayos de polifenoles totales, también son conocidos otros ácidos naturales como el vanílico, sirínico, protocatecuico y p-hidroxibenzoico, de los cuales presentan una estructura común (C6-C1) (Balasundram *et al.*, 2006). Los hidroxicinámicos son compuestos aromáticos con tres carbonos que forman una cadena lateral (C6-C3), como son los ácidos cafeicos, ferúlico, p-cumárico y sináptico (Bravo, 1998).

Los fenoles totales determinados en la técnica de Folin-Ciocalteu se fundamenta en una reacción de oxidación/reducción y esto se debe al carácter reductor del reactivo de Folin. El método determina la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el reactivo que posee la mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, como resultado de tal reacción, el reactivo de color amarillo origina óxidos azules de wolframio W_8O_{23} y molibdeno Mo_8O_{23} (Amaya & Portillo, 2013; Leos-Rivas *et al.*, 2016).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular, consistiendo en 15 átomos de carbono, organizados en la configuración (C6-C3-C6) (Harborne *et al.*, 1999; Amaya & Portillo, 2013). Están formados en dos anillos fenilos (A) derivado del ciclo acetato/malonato y (B) derivado de la fenilalanina unidos por tres carbonos que forman un anillo heterocíclico (C) (Merken & Beecher, 2000). Algunas variaciones en la sustitución del anillo C resultan en las principales clases de flavonoides: flavonoles, flavonas, flavanoles (catequinas), isoflavonas y antocianidinas. Los diferentes compuestos originados de los flavonoides se deben a las sustituciones en los anillos A y B (Hollman & Katan, 1999).

Los flavonoides totales determinados en la técnica de Método Colorimétrico se fundamentan en que el catión de aluminio es capaz de formar complejos estables, produciendo a través del análisis espectrofotométrico una intensa absorción evitando la interferencia de los compuestos fenólicos que se presentan juntamente con los flavonoides (Amaya & Portillo, 2013).

DPPH y ABTS

Según Londoño (2012) la actividad antioxidante mide la capacidad de una sustancia de inhibir la degradación oxidativa (peroxidación lipídica) siendo así un antioxidante actúa en los procesos biológicos debido a la capacidad que poseen para reaccionar con los radicales libres. Son conocidos diferentes métodos para medir esta actividad, estudiando la capacidad del antioxidante para estabilizar el radical libre, dentro de los cuales podemos citar algunos radicales libres coloreados con fuerte absorción en el espectro visible como el DPPH y ABTS.

En el método de DPPH, según Venegas Casanova (2012), el radical libre posee un electrón desapareado y la solución es de color violeta, virando hacia amarillo por una reacción con la sustancia capturadora de radicales libres. Las diferentes absorbancias

que se obtiene en el método es lo que permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres.

En el método de ABTS, según Amaya & Portillo (2013), se mide la decoloración del radical que presenta un color azul intenso, que se basa en la capacidad de captura que tiene el anión radical ABTS^{•-}. En la forma de catión es oxidado por radicales peróxidos u otros agentes oxidantes observando un color intenso, la capacidad antioxidante de los compuestos de prueba se mide como la inhibición óptica a la absorbancia en la cual se presenta una disminución del color, al reaccionar directamente con el radical, que es generado por la oxidación de ABTS con persulfato de potasio y que se reduce en presencia de antioxidantes donadores de hidrogeno. Entre algunas ventajas de este método podemos citar: la generación directa del radical sin la participación de un otro radical intermediario, ensayo de decoloración en que el catión radical es preformado antes de la adición de la muestra antioxidante y es aplicable tanto en sistemas acuosos o lipofílicos.

Producción de Maíz en el Mundo

En el ciclo agrícola 2016/2017 la producción de maíz fue estimada en 1.025.6 millones de toneladas (MMt) cosechadas. Los mayores productores de maíz son: Estados Unidos (382.4), China (216.0), Brasil (83.5), Unión Europea (60.2) y Argentina (36.5), produciendo 76% del total incrementado por 6.9% con relación a la producción del ciclo agrícola de 2015/2016, (Figura 5), (USDA, 2016). Según datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en el ciclo agrícola de 2017/2018, la producción fue estimada en 1075 millones de toneladas cosechadas y en el ciclo agrícola 2018/2019, la producción se ve estimada en 1099 millones de toneladas cosechadas (USDA, 2019).

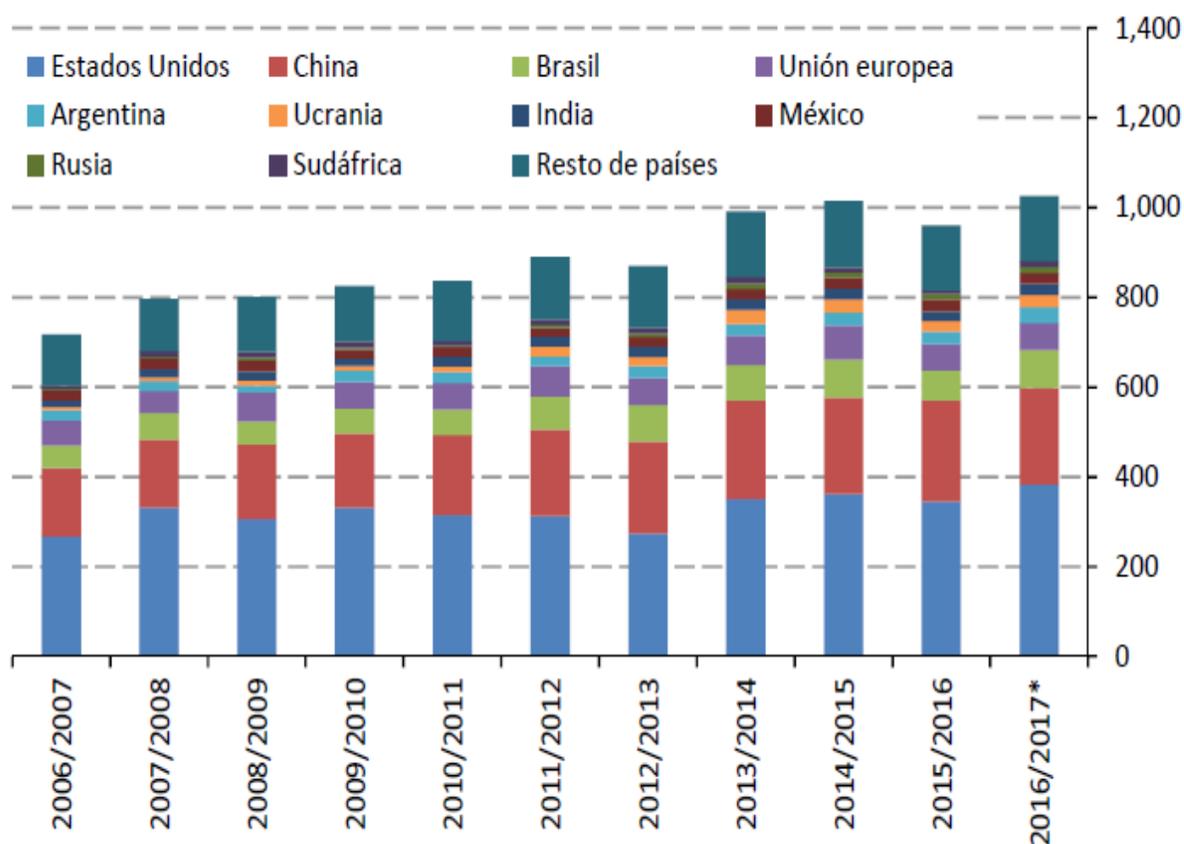


Figura 5. Producción mundial de maíz (MMt) 2006/07 - 2016/17 (Fuente: Panorama Agroalimentario, Maíz, USDA, 2016). *Estimado.

Producción de Maíz en México

El maíz es el cereal más consumido en México, ocupando el primer lugar. Durante el ciclo agrícola de 2014 alcanzó 23.273 millones de toneladas. En 2015, la producción se vio incrementada a 6.1% totalizando 24.694 millones de toneladas, (Tabla 2), siendo representados por el maíz blanco con 21.326 y el maíz amarillo con 3.368, (USDA, 2016; SIACON-SAGARPA y SIAP).

Tabla 2. Producción nacional de maíz grano (MMt) 2005-2015

*V	2005	2006	2007	2008	2009	2010
a	7.979	7.807	8.117	7.942	7.726	7.861
b	6.606	7.295	7.333	7.344	6.223	7.148
c	19.339	21.893	23.513	24.410	20.143	23.302
d	2.93	3.00	3.21	3.32	3.24	3.26
*V	2011	2012	2013	2014	2015	-
a	7.750	7.372	7.487	7.426	7.600	-
b	6.069	6.924	7.096	7.060	7.099	-
c	17.635	22.069	22.664	23.273	24.694	-
d	2.91	3.19	3.19	3.30	3.48	-

*V (Variables) a (Superficie sembrada-miles de hectárea), b (Superficie cosechada-miles de hectárea), c (Producción-miles de toneladas) y d (Rendimiento-toneladas/hectárea). Fuente: SIACON-SAGARPA y SIAP.

El maíz blanco superó la producción con 85.9%, seguido del maíz amarillo con 13.6% y las demás variedades de maíz con 0.5%. El maíz amarillo se vio incrementado entre los periodos agrícolas de 2005 con 6.9% y 2015 con 13.6%, (Figura 6), (USDA, 2016; SIAP-SAGARPA). También entre los periodos agrícolas de 2016/2017 la producción de maíz blanco fue de 23.4% y de maíz amarillo 3.3% (Figura 7), (USDA, 2016; números del campo).

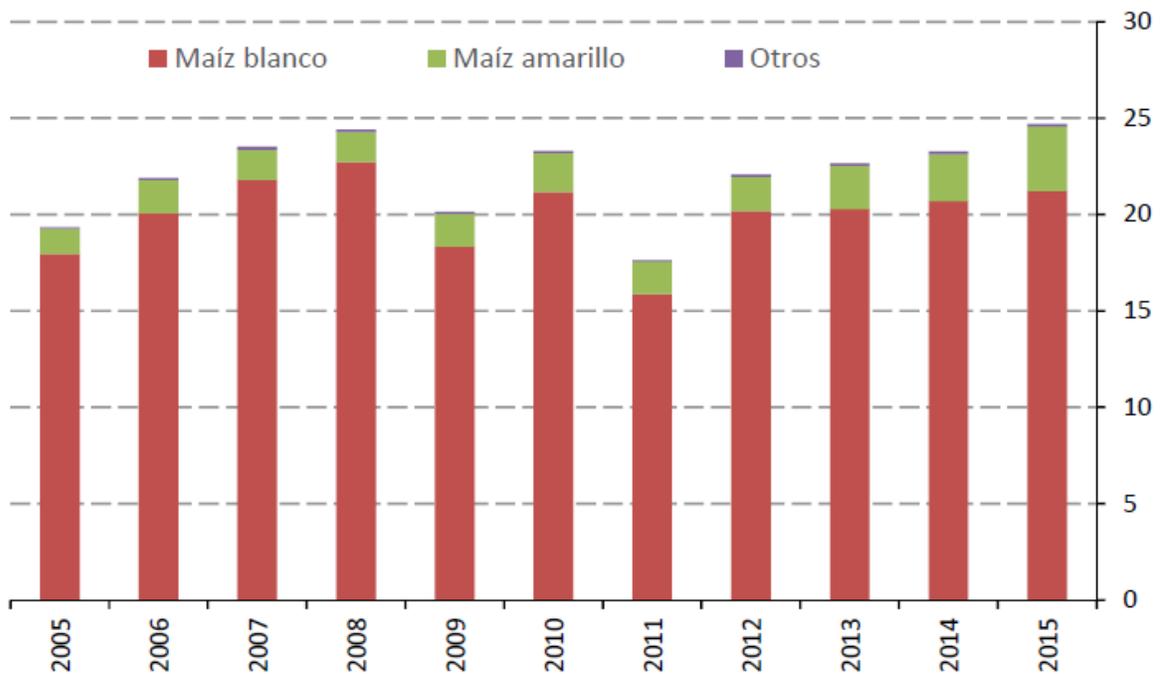


Figura 6. Producción de maíz grano (MMt) en México por tipo 2005 - 2015 (Fuente: Panorama Agroalimentario, Maíz, USDA, 2016; SIAP-SAGARPA).

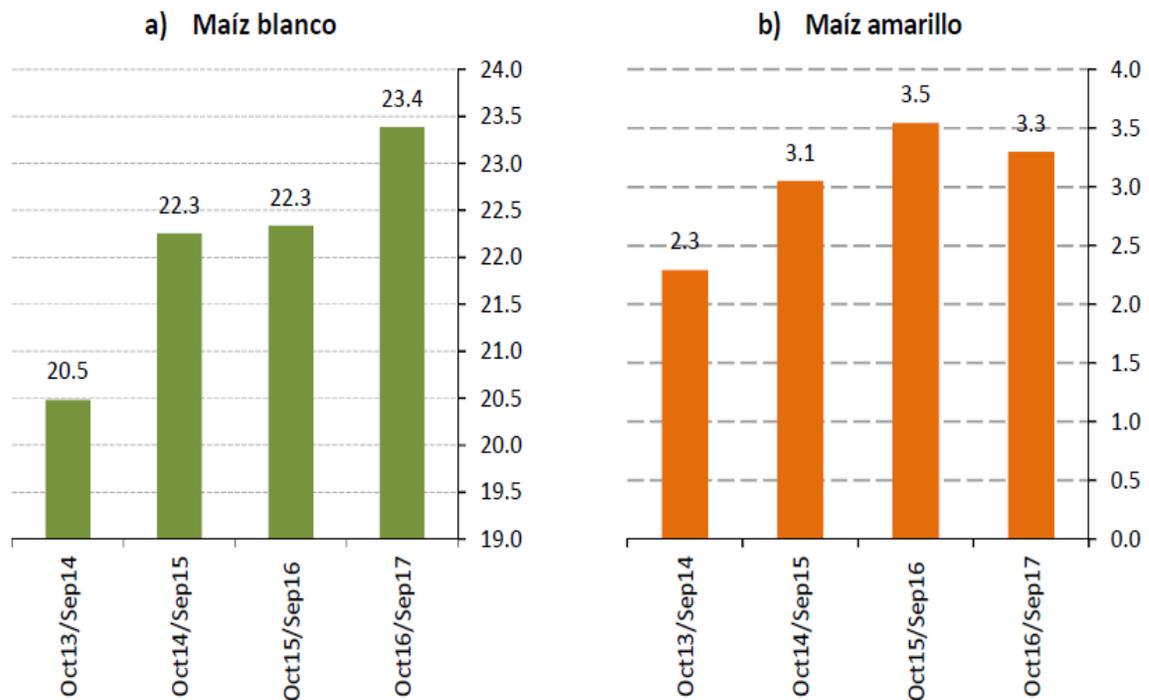


Figura 7. Producción de maíz por ciclo comercial (MMt) (Fuente: Panorama Agroalimentario, Maíz, USDA, 2016; números del campo).

Producción de Maíz en el Estado de Sonora

En el año agrícola de 2015 la producción de maíz grano fue de 80% representando diez estados: 1. Sinaloa (21.8%), con el volumen de 5.380 millones de toneladas, 2. Jalisco (13.5%), con 3.339 millones de toneladas, 3. México (8.2%), con 2.036 millones de toneladas. La posición de los otros estados son 4. Michoacán, 5. Chihuahua, 6. Guanajuato, 7. Veracruz, 8. Chiapas, 9. Tamaulipas y 10. Puebla (Figura 8), (USDA, 2016; SIAP-SAGARPA). Según datos de SIAP ciclo otoño/invierno del 2018, Sonora se encuentra en el 23° lugar produciendo 518.703 toneladas y junto con los otros estados produjeron 7.758.060 toneladas.

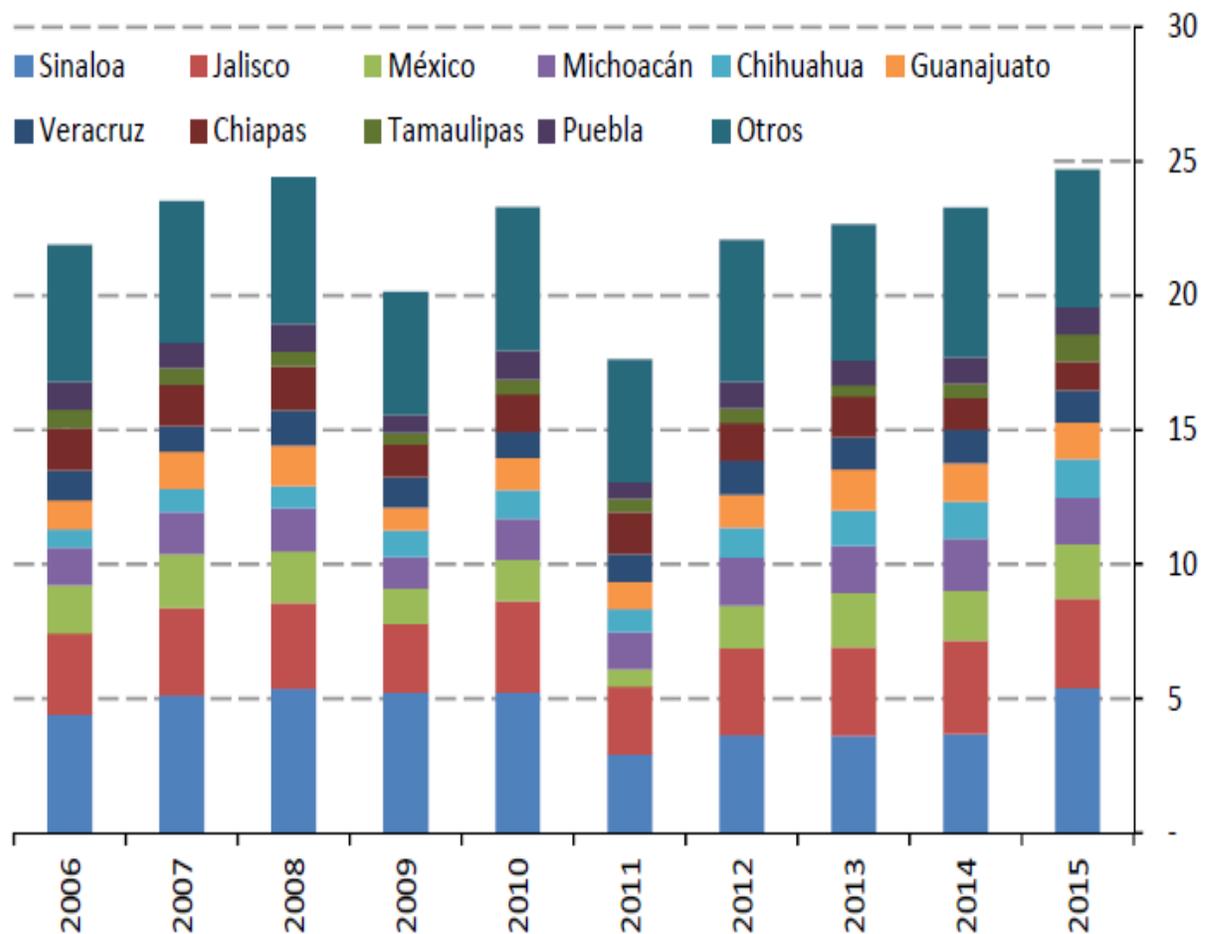


Figura 8. Principales estados productores de maíz grano en México (Fuente: Panorama Agroalimentario, Maíz, USDA, 2016; SIAP-SAGARPA).

Almacenamiento de Grano de Maíz

Debido a los grandes volúmenes en la producción de maíz que son cosechados, los granos no pueden ser procesados rápidamente postcosecha, es necesario asegurar la reserva en buenas condiciones recurriendo al almacenamiento para conservar la calidad final de los productos (Espinosa *et al.*, 2009). El proceso de almacenamiento se define como la actividad agrícola que concentra la producción en determinados lugares, proporcionando a estos productos condiciones ideales para que no sean dañados por factores adversos del medio ambiente como ataque de plagas y enfermedades, así, previniendo las pérdidas en el peso total del grano y reducción en la calidad (García *et al.*, 1994; Pacheco, 2016).

Los insecticidas químicos convencionales son muy utilizados como método de control en los almacenes, debido a su excelente acción, aun así, los insecticidas muchas veces no controlan la proliferación de los insectos en el grano debido a su rápida degradación y también por los efectos secundarios que pueden presentar (Murguido & Elizondo, 2007) por esta razón son recomendados guardar estos granos en otros recipientes y utilizar diferentes métodos de almacenaje que pueden ser:

Sacos: Método más antiguo, pueden ser hechos de yute, fibras sintéticas, sisal entre otros, presentan desventajas por el costo elevado no garantizan la duración por mucho tiempo y no proporcionan la protección contra los insectos, roedores y humedad. Es considerada relativamente lenta, pues requiere de mano de obra especializada (Reyes & Nicaragua, 2002).

Sacos de plástico: Para utilizarlos no deben de tener perforaciones, visto que muchas veces son perforados por los insectos, se recomienda utilizar otro tipo de material que sea más fuerte en el interior del saco plástico, también se debe asegurar que los granos estén completamente secos y libres de humedad (Ramírez, 2012).

Hermético: El grano se coloca dentro del recipiente sin permitir la entrada de aire. Los insectos que estén en el grano respiran y utilizan todo el oxígeno presente dentro del recipiente (García *et al.*, 2007) por lo cual se torna difícil e imposible en este ambiente que los insectos respiren y así mueren.

Tambores metálicos: El maíz es uno de los productos más recomendados para ser almacenados de esta forma y debe de estar seco con un contenido de humedad inferior o igual al 12%, asegurándose la limpieza y el secado del tambor, condiciones favorables para conservar bien y por mucho tiempo los productos que deben permanecer herméticamente cerrados (Dávila & Sánchez, 2015).

Depósitos de metal: Son utilizados mundialmente en pequeña escala. Las principales desventajas de su uso es que son costosos y se oxidan rápidamente en locales húmedos, por otro lado, si se encuentran cerrados herméticamente, lejos de luz solar y colocados en superficies que no están en contacto con el suelo controlan a los insectos, roedores, hongos y bacterias, son de fácil acceso lo que le permite transportarlos de uno ambiente a otro (García *et al.*, 2007).

Silos: Son recomendados para almacenar grandes volúmenes de granos, permitiendo aprovechar más el espacio para guardar los productos sin estar mezclándolos. Mundialmente los silos son conocidos y utilizados para almacenar medios y grandes volúmenes de granos. Generalmente son contruidos con chapas metálicas de hierro o aluminio. Pueden ser de dos tipos: de fondo plano, que recibe la descarga del material, por equipo mecánico y de fondo cónico recibiendo el material por gravedad. Los equipos utilizados son portátiles o fijos, siendo común el uso de elevadores o transportadores. En algunas regiones como las tropicales y subtropicales, los rayos solares que están en contacto con las paredes externas del silo pueden promover condensación de partículas de vapor de agua en las paredes internas, para evitar este problema los silos deben de contar de un sistema de aireación que enfríe los granos y eviten su deterioro y de termometría detectando rápidamente la presencia de calor en los granos (García-Lara *et al.*, 2007).

En el estado de Sonora son utilizados diferentes formas de almacenamiento de granos como silos de concreto o acero, algunos de ellos, presentan una infraestructura rústica, utilizados normalmente en el área rural y se depositan pocos granos, otros, ya son más modernos y utilizados para almacenar grandes volúmenes de granos, (Figura, 9), muchas veces debido a estos grandes volúmenes en la producción también pueden ser almacenados en patios al aire libre. Esto se torna altamente desfavorable pues los granos están directamente en contacto con factores externos del ambiente como las plagas, roedores y aves, con esta situación se tienen altas pérdidas económicas, como la depreciación del producto considerando que se va destinado a la exportación.



Figura 9. Almacenes de maíz en el estado de Sonora. A- Silos de Concreto en Guaymas; B- Silos de Acero y C- Patios de almacenamiento al aire libre en Navojoa.

Plagas de Insectos en Granos Almacenados

A nivel mundial, los insectos causan pérdidas cuantitativas (Padín *et al.*, 2002; Jayas & White, 2003, Ceruti & Pinto Junior, 2009; Dionisio *et al.*, 2016). Durante la producción de maíz pérdidas superiores al 10% y en el almacenamiento de 10% al 20% (Pingali, 2001; García Lara & Bergvinson, 2007; García-Lara *et al.*, 2007).

Los insectos provocan grandes pérdidas en los productos considerando: la pérdida del peso de los granos sobre el poder germinativo y el vigor de la semilla (Doria, 2010), pérdida del valor nutritivo, afectando o reduciendo los componentes (Palafox-Caballero *et al.*, 2008), pérdida del valor comercial llevando a una depreciación de los productos (Domínguez & Marrero, 2010), pérdida de la calidad alterando el olor y el sabor de los granos (Hernández *et al.*, 2009). La presencia de los insectos en los granos favorece la producción de un ambiente complejo, produciendo gas carbónico (CO₂) y agua (H₂O) que contribuyen en el aumento de la humedad, de la temperatura y de la respiración (Santos, 2006), facilitando la multiplicación de los hongos, sus toxinas u otros agentes.

El insecto puede causar dos tipos de daños a los granos o semillas, como son los daños directos provocados por larvas o adultos cuando perforan y se alimentan del interior del grano y los daños indirectos cuando se tiene una proliferación de los desechos dejados por los insectos de los daños directos elevando la temperatura y así tener otros agentes en los productos (Badii & Abreu, 2006; Cañedo *et al.*, 2011), también los ataques a otras estructuras de los almacenes son considerados.

Las diferentes especies de insectos que atacan a los granos y productos durante el almacenamiento son variadas y relacionadas a los tipos de ataques que provocan, (Tabla 3), (Nuessly & Hentz, 2004; León *et al.*, 2010; García Pérez, 2009; Sá Argolo, 2012; Czepak *et al.*, 2013; Pinheiro *et al.*, 2013; 2013; Tulli *et al.*, 2016; Becheleni & Campolino, 2017; García Zavala *et al.*, 2005). Son agrupadas en especies primarias

los insectos que perforan y se alimentan de granos enteros, principalmente del almidón, donde se encuentra la principal fuente energética, dejando espacios libres para la oviposición y el desarrollo de sus larvas como *Sitophilus zeamais*, *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae*, *Prostephanus truncatus*, *Rhyzopertha dominica*, *Sitotroga cereallela* entre otros. En los granos dañados, en la harina y excrementos dejados por estos insectos se tiene un ambiente favorable para el crecimiento de patógenos y otras especies secundarias como *Tribolium castaneum*, *Tribolium confusum*, *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Plodia interpunctella*, entre otros (Velasquez & Horacio, 1983).

Ciclo biológico de *Sitophilus zeamais*

El gorgojo *Sitophilus zeamais* es considerado una de las principales plagas de granos almacenados de cultivos de maíz más destructivas, debido a que los mayores daños son ocasionados por larvas e insectos adultos en el interior del grano (Zamorano, *et al.*, 2014). Es un insecto holometábolo, es decir, su metamorfosis es completa pasando por 4 estadios de desarrollo (huevo, larva, pupa y adulto) (Figura 10). Los insectos perforan con su pico a los granos y las hembras depositan en el interior sus huevecillos blanquecinos y posteriormente los tapa con una sustancia gelatinosa que producen y que luego se endurece. En su ciclo reproductivo cada hembra puede producir de 200 a 500 huevecillos, de ahí nace las larvas en un color blanco y ápodas, que se alimentan del interior del grano en un tiempo de 3 a 4 semanas pasando al estadio de pulpa entre 8 a 10 días hasta llegar a desarrollarse como adultos entre 30 a 42 días, en este momento perforan los granos y salen. Dependiendo de las condiciones en que se encuentran su ciclo de vida puede variar entre 30 a 113 días (Martínez López, 2008; Moo, 2011; Morales Alvarez, 2014; Padilla Álvarez, 2015; Bastida Hernández *et al.*, 2016).

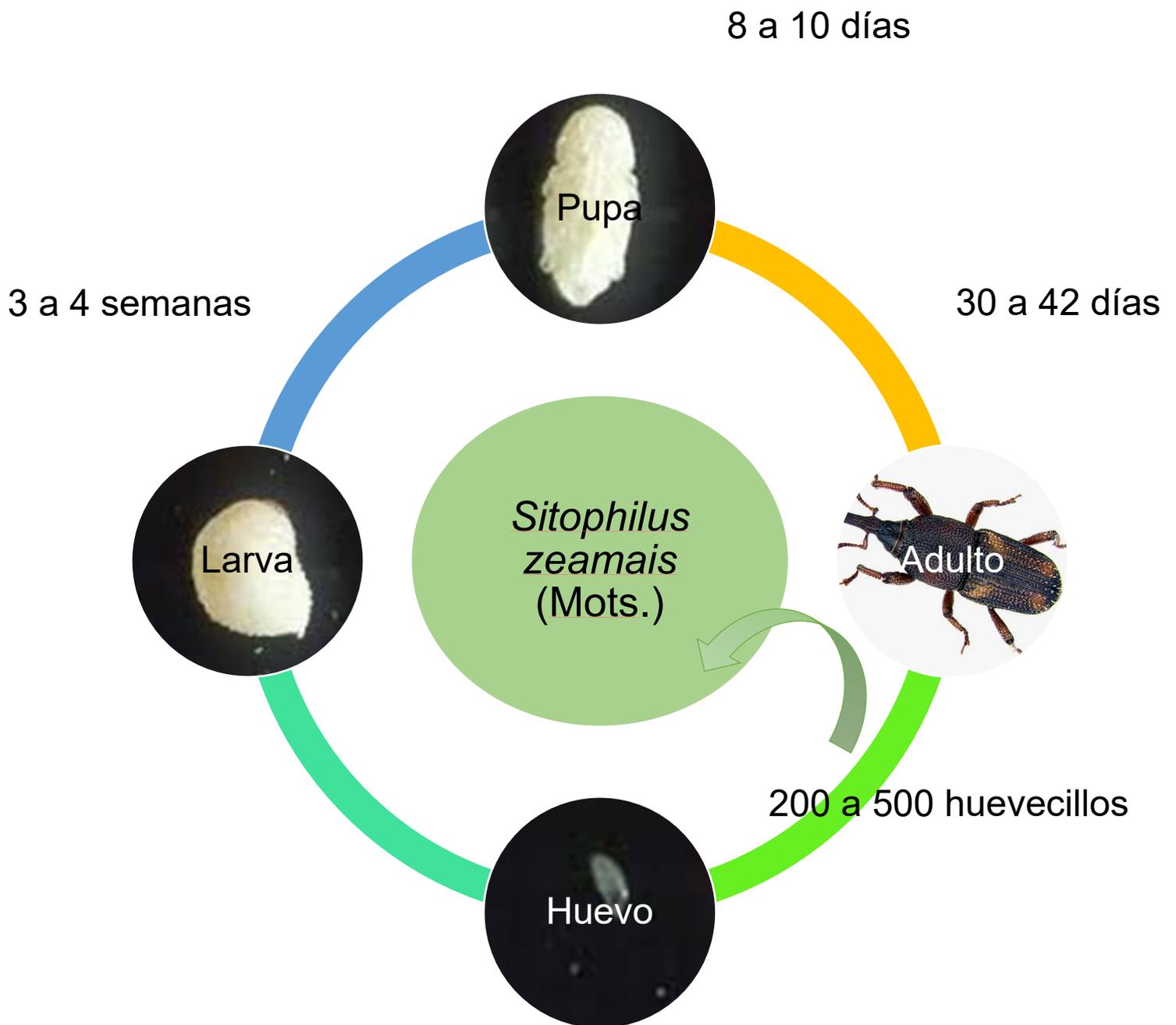


Figura 10. Ciclo biológico del insecto *S. zeamais* (Mots.).

Clasificación Taxonómica de *Sitophilus zeamais*

Reino: Animal

Filo: Artrópoda

Clase: Insecta

Orden: Coleóptera

Familia: Curculionidae

Género: *Sitophilus*

Especie: *S. zeamais*

Nombre científico: *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1885)

Nombres comunes: Gorgojo del maíz, Gorgojo picudo, (Figura 11).



Figura 11. Estadios larvarios, pupa y adulto de *S. zeamais* (Mots.). (Fuente: García Lara *et al.*, 2007).

Tabla 3. Insectos que dañan a los cultivos y granos de maíz almacenados.

Nombre común	Nombre científico	Tamaño	Oviposición	Ciclo biológico	Daños
Gorgojo del maíz	<i>Sitophilus zeamais</i>	3.3 a 5.0 mm	200 a 500	30 a 42 días	Ciclo larva-adulto dentro del grano ^c
Gusano Cogollero	<i>Spodoptera frugiperda</i>	35.0 mm	1500 a 2000	30 a 40 días	Afectan la germinación hasta la madurez del cultivo ^h
Gusano Trozador	<i>Agrotis sp.</i>	50.0 mm	1300 a 2000	26 a 31 días	Alimentan de raíces, tubérculos y partes verdes de la planta ^b
Gusano Elotero	<i>Helicoverpa zea</i>	35.0 mm	500 a 3000	28 a 45 días	Alimentan de estigmas y granos de la mazorca ^g
Oruga del Viejo Mundo	<i>Helicoverpa armigera</i>	35.0 a 40.0 mm	500 a 1500	35 a 40 días	Alimentan de la yema apical del brote y hojas ^e
Araña Roja	<i>Tetranychus urticae</i>	0.5 mm	100 a 120	9 a 14 días	Alimentan de tejidos de las hojas ^d
Trips	<i>Frankliniella sp.</i>	1.0 mm	200	12 a 20 días	Alimentan de las células vegetales ^f
Mosca de los Estigmas	<i>Euxesta stigmatias</i>	7.0 mm	95	13 días	Alimentan de los estigmas y granos frescos del elote ^a
Palomilla dorada del maíz	<i>Sitotroga cerealella</i>	5 mm	40 a 280	32 a 39 días	Alimentan del interior del grano ⁱ

^aNuessly & Hentz, 2004; ^bLeón *et al.*, 2010; ^cGarcía Pérez, 2009; ^dSá Argolo, 2012; ^eCzepak *et al.*, 2013; ^fPinheiro *et al.*, 2013; ^gTulli *et al.*, 2016;

^hBecheleni & Campolino, 2017; ⁱGarcía Zavala *et al.*, 2005.

Métodos de Control de Plagas en Granos Almacenados

La importancia de los insectos no se debe solamente a los daños que provocan en los productos, sino especialmente a la dificultad para controlarlos (Santos Sandoval & Senô, 2010; Chicaré, 2018). Una de las razones es que los medios a que se encuentran expuestos los insectos, como los depósitos de los almacenes, son favorables para alimentarse y multiplicarse, no impidiendo el ataque y ni creando un espacio inconveniente para ellos (Santos & Fontes, 1990; Cruz, 1992; Silveira & Borges, 2004). Si las condiciones de humedad, oxígeno y temperatura contribuyen tienen disponibles una gran cantidad de alimentos que les van a asegurar la multiplicación y su sobrevivencia (Azevedo & Moura, 2013).

Por esta razón, se hace necesario estudiar los parámetros poblacionales de la plaga, como su patrón de dispersión, así como los tipos de daños que provocan para crear tácticas económicas, eficaces y que sean sostenibles para el control. Se ha utilizado el Manejo Integrado de Plagas (MIP) para proporcionar mejoras en las poblaciones de insectos estudiados (Lorini, 2001; Panizzi & Parra, 2009; Picanço & Oliveira, 2010; Mendes & Viana, 2015), esta técnica se define como la utilización de acciones favorables permitiendo al agricultor tomar las medidas adecuadas para controlar las plagas que ocurren en la cultura.

Actualmente son conocidos y estudiados diferentes métodos de control de plagas en los almacenes. Los insecticidas químicos han sido más utilizados por su rapidez en el control de los insectos, sin embargo, debido al uso de elevadas cantidades ocasionan riesgos graves al medio ambiente y las poblaciones debido a la composición tóxica y su acción (Montoro *et al.*, 2009; García-Gutiérrez & Rodríguez-Meza, 2012). Los problemas más comunes que han sido reportados son: daño a la salud del manipulador por el contacto directo con la toxicidad, la resistencia adquirida de los insectos sobre las sustancias presentes, lo que lleva a la utilización de altas concentraciones de producto, no se degradan con facilidad y pueden eliminar otros insectos benéficos

como los depredadores naturales (Altieri, 2001; Díaz *et al.*, 2005; Puerto *et al.*, 2014; Luzuriaga Calle & Luzuriaga Calle, 2018).

En este contexto, los extractos y aceites esenciales de plantas aromáticas son conocidos y utilizados desde muchos años como agentes antimicrobianos, antibacterianos, antifúngicos y antioxidantes (Dorman & Deans, 2000). Además, se ha reportado que alguno de ellos presenta propiedades insecticidas, repelentes y atraerentes teniendo un gran crecimiento, destaque y un futuro prometedor con productos botánicos importantes como bio plaguicidas, pues poseen muchas ventajas sobre los insecticidas químicos presentando óptimas características: bajo costo, baja toxicidad, alta disponibilidad y biodegradabilidad (Moreira *et al.*, 2006).

Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas de fracciones volátiles y sustancias aromáticas líquidas naturales, con más de cien compuestos químicos orgánicos provenientes de la familia química de los terpenoides que forman parte del metabolismo secundario de las plantas (Usano *et al.*, 2014), es posible de obtenerlos por medio de diversas técnicas, una de las más comunes es la técnica de arrastre por vapor de agua, conocida como hidrodestilación, (Figura 12), (Álvarez *et al.*, 2012), ya que no son necesarios utilizar solventes en el proceso de extracción (Viegas Júnior, 2003).

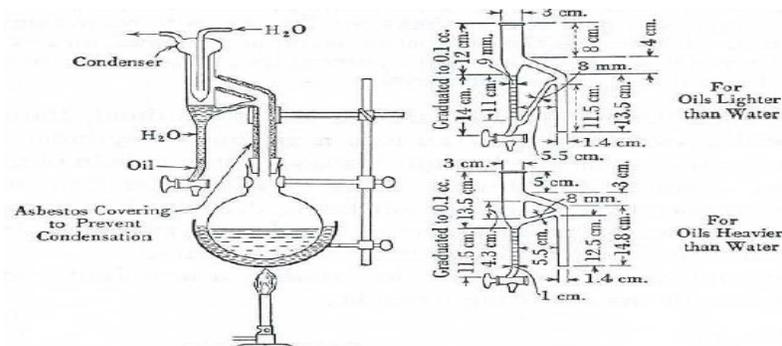


Figura 12. Técnica de hidrodestilación con equipo Clevenger (Fuente: Álvarez, *et al.*, 2012).

Se pueden obtener de diferentes órganos de la planta como: corteza, frutos, raíces, tallos, semillas, flores y hojas, (Figura 13). Los aceites esenciales pueden ser encontrados en muchas familias de plantas como: Asteraceae, Apiaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae, Rosaceae, Rutaceae y Verbenaceae, producidos y almacenados en estructuras secretoras que difieren en morfología, distribución y función (Trampe y Morales, 2017).



Figura 13. Localización de los aceites esenciales.

Familia Lamiaceae y Myrtaceae

La familia Lamiácea del orden Lamiales la cual pertenece el orégano (*Origanum vulgare*) originario de Europa es muy diversa, son conocidos alrededor de 7.173 especies de plantas (Harley & Pastore, 2012; Martínez-Gordillo *et al.*, 2013), y está relacionada con otras familias con especial atención a la familia Verbenácea la cual pertenece a la misma orden, donde si tiene otra variedad de orégano conocido como *Lippia graveolens* originario de México (Ocampo-Velázquez *et al.*, 2009). Su distribución es subcosmopolita y diversa en zonas templadas del mediterráneo y región central de Asia. En México son encontrados en zonas montañosas, tienen una gran importancia económica mundial debido a su utilización en la culinaria como condimentos.

La familia Mirtácea del orden Mirtales la cual pertenecen el Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) poseen 12 géneros y 124 especies, ampliamente distribuidas en regiones tropicales, templadas y semiáridas de México (Rebollar-Domínguez & Tapia-Torres, 2010). El Eucalipto es un árbol y tiene su origen en Tasmania en zonas este, sudeste y oeste, también en islas en el sur de Victoria en Australia (Di Marco, 2015). Es utilizado como descongestionante nasal, ayuda a reducir la tos, con masajes puede aliviar dolores en los músculos, antiséptico de pequeñas heridas y también presenta efectividad contra insectos (Rueda & Mogollón, 2013). En gran parte del mundo el Eucalipto representa una gran importancia económica en empresas destinadas al sector de obtención de madera como es con *Eucalyptus camaldulensis*. El Niaouli es un árbol y tiene su origen en Australia. Las hojas son útiles para tratar la presión arterial alta, herpes e inhibición de *Helicobacter pylori* (Pino *et al.*, 2011). Pueden presentar también efectos hipoglucémicos disminuyendo los niveles de azúcar en la sangre, presenta propiedades antiparasitarias, antisépticas, analgésicas, estimulantes, anti malaria, antipirética, expectorante, antiséptico urinario, antihelmíntico, tratamiento para el reumatismo, enfermedades de la piel y también presenta efectividad contra insectos (Amer & Mehlhorn, 2006).

Clasificación Taxonómica del Orégano

Reino: Planta

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Origanum*

Especie: *O. vulgare*

Nombre científico: *Origanum vulgare* (Linneo, 1753).

Nombre común: Mejorana silvestre, (Figura 14).



Figura 14. Características del árbol de *Origanum vulgare*. (Fuente: <http://www.plantasmallorca.com/site/es/aromaticas-y-culinarias/106-oregano-origanum-vulgare.html>).

Clasificación Taxonómica del Eucalipto

Reino: Planta

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: *Eucalyptus*

Especie: *E. globulus*

Nombre científico: *Eucalyptus globulus* (Labill).

Nombre común: Eucalipto blanco, (Figura 15).



Figura 15. Características del árbol de *Eucalyptus globulus*. (Fuente: <https://aromaticstudies.com/about-eucalyptus-globulus-and-18-cineole/>).

Clasificación Taxonómica del Niaouli

Reino: Planta

Filo: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: *Melaleuca*

Especie: *M. quinquenervia*

Nombre científico: *Melaleuca quinquenervia* Cav. (1797); S.T. Blake (1958).

Nombre común: Calistemo blanco, (Figura 16).



Figura 16. Características del árbol de *Melaleuca quinquenervia*. (Fuente: <https://www.pureplantessentials.com/products/niaouli-melaleuca-quinquenervia-certified-organic-madagascar>).

Compuestos Químicos de los Aceites Esenciales

La utilización de los aceites esenciales depende exclusivamente de una acumulación de compuestos de bajo peso molecular, llamados metabolitos secundarios, que son capaces de establecer simbiosis con otros organismos como los insectos polinizadores y dispersores de semillas y frutos y también de producir respuesta de defensa química contra cualquiera tipo de daño ocasionado por factores externos del ambiente cuando si sienten amenazadas, (Figura 17), (Sepúlveda Jiménez *et al.*, 2003).

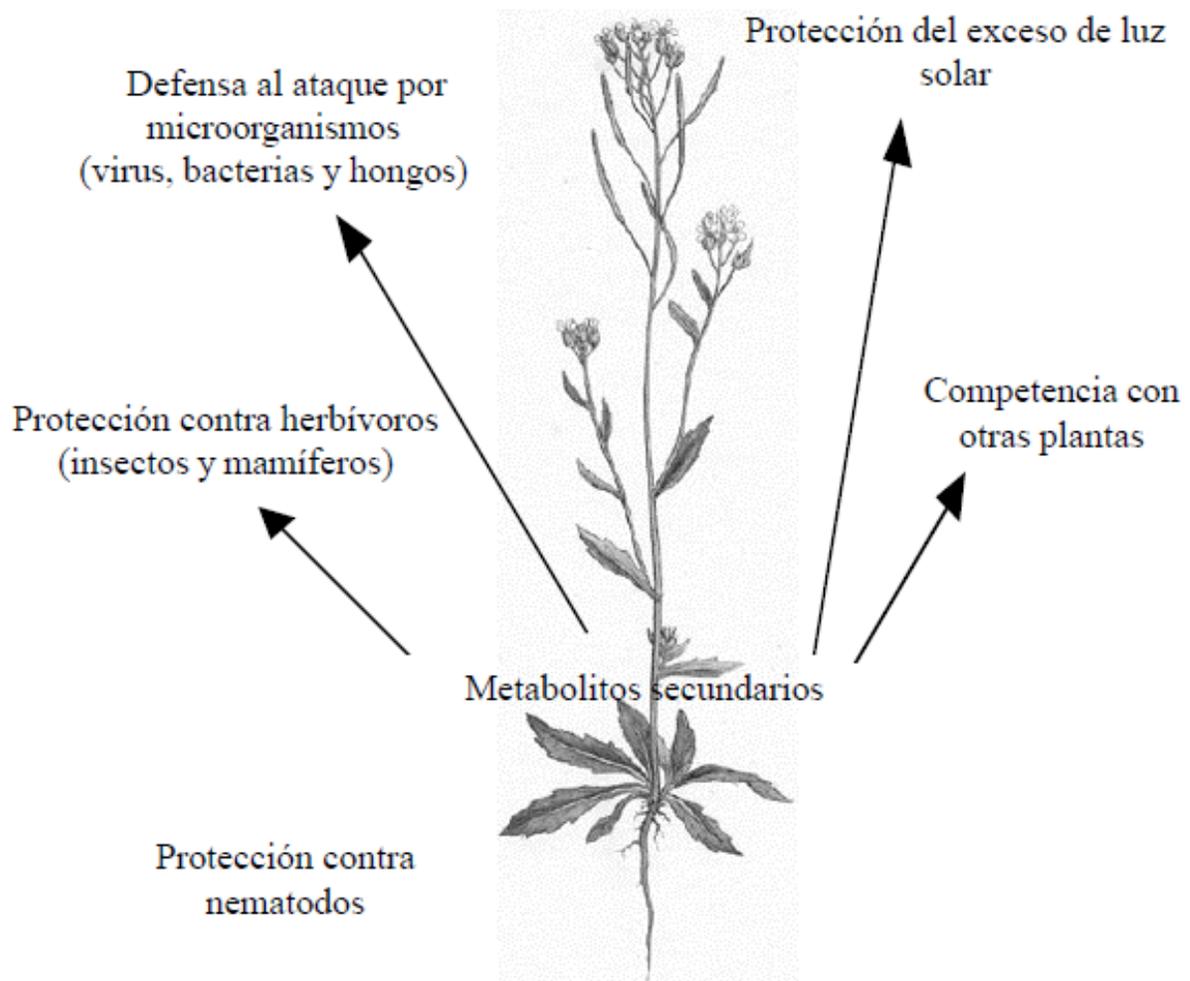


Figura 17. Metabolitos secundarios inducidos en la defensa de plantas. (Fuente: Sepúlveda Jiménez *et al.*, 2003).

La cantidad de los constituyentes mayoritarios presentes en los aceites esenciales pueden estar relacionados con la época de recolección de la planta, tipo de material vegetal si es fresco o seco, edad de la planta y método utilizado para la extracción. Son clasificados en tres grupos: 1. Productos secundarios nitrogenados incluyendo alcaloides, amins, aminoácidos no proteicos, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. 2. Compuestos fenólicos y 3. Productos secundarios no nitrogenados caracterizados por hidrocarburos de los terpenos (clase terpénica), derivados del hemiterpeno isopreno (C₅), C₅H₈ como: monoterpenos (C₁₀), C₁₀H₁₆ y sesquiterpenos (C₁₅), C₁₅H₂₄, son más volátiles y con un peso molecular no tan elevado, constituidos por hidrocarburos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos y policíclicos, están ligados por hidrocarburos aromáticos de los arenos (clase arénica), compuestos oxigenados acíclicos de bajo peso molecular como: alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres, entre otros (Ormeño & Fernández, 2012), derivados del fenilpropano, que son productos del metabolismo primario como la glucólisis, el ciclo de Krebs o la vía del ácido shikímico, (Figura 18), (Taiz & Zeiger, 2007).

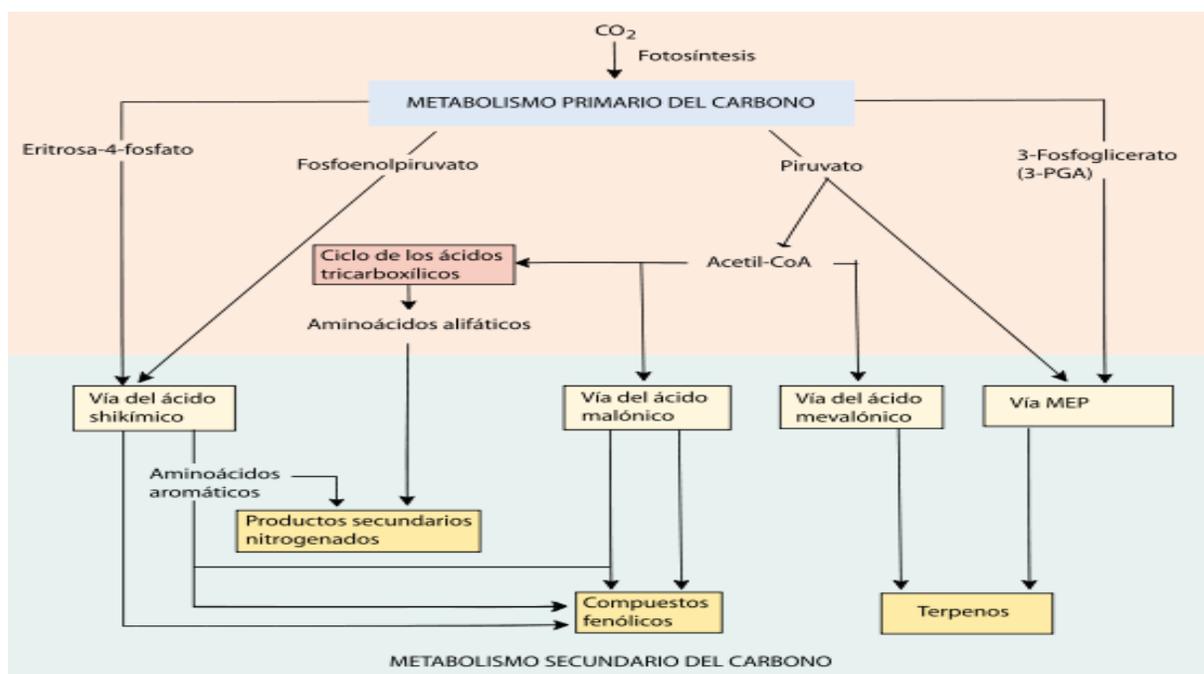


Figura 18. Producción de metabolitos secundarios (Fuente: Taiz & Zeiger, 2007).

Los aceites esenciales poseen una consistencia muy similar al de otros tipos de aceites como los grasos, pero, son distinguibles debido a su rápida volatilización y por no dejar manchas ni residuos sobre superficies. Aunque, también suelen ser confundidos como esencias aromáticas, es necesario saber diferenciarlos. Las esencias aromáticas no contienen compuestos activos por lo cual no aportan ningún tipo de propiedad y su única finalidad de utilización es como perfume. El concepto de aceite esencial puede ser aplicado a dos vías como sustancias sintéticas y sustancias semisintéticas elaboradas a partir de los aceites esenciales naturales, demostrando que los productos sintéticos no tienen la misma eficacia y actividad que los productos naturales generando un compuesto que solo parece ser igual al original. Es muy común de ser observar por ejemplo en el mercado donde se comercializan aceites esenciales que no presentan el 100% de pureza de determinado producto, siendo adulterados o mezclados con otros componentes diferentes o que no sean aceites esenciales, por esto se recomienda conocer bien al producto.

Efecto de los Aceites Esenciales sobre los Insectos

Así como cualquier otro método los aceites esenciales también presentan desventajas, esto se debe a que en muchos casos se desconoce su modo de acción, por esta razón es importante conocerlos y cómo actúan para controlar los insectos, realizando bioensayos *in vitro* para seleccionar los más eficaces para el control (Moretti, 2015; Trampe & Morales, 2017).

El mayor efecto que poseen sobre los insectos es que rompe la membrana celular (bicapa lipídica), presentando modos de acción específicos. En un estudio realizado por Belzile *et al.*, (2000) vieron que esto se debe a los diferentes mecanismos convirtiendo en sinergistas, y según Jensen *et al.*, (2006) el factor suele ser mayor cuando combinados con otros insecticidas botánicos teniendo otros efectos en la biología del insecto y sobre el transcriptoma del citocromo P450.

Sobre la biología del insecto corresponden los monoterpenos volátiles, con moléculas pequeñas (monocíclico o acíclicos), que son los principales responsables por la transmisión de señales que va desde las plantas hacia los insectos (Li *et al.*, 2008). Las proteínas involucradas en los compuestos aromáticos y quimiosensores y que se encuentran en los receptores sensoriales participando en la captura y transporte de los estímulos moleculares son: OBPs, PQSs, PEOs y CSPs (Fan *et al.*, 2011).

Los monoterpenos son neurotóxicos para los insectos, siendo conocidos: GABA-gated y GABA que asociados a canales de cloro suelen alterar la sinapsis de GABA (Priestley *et al.*, 2003), que afectan la actividad celular y procesos biológicos. El compuesto eugenol activa receptores específicos para la octopamina a través del sistema octopaminérgico que posee la función de neuromodulador (Enan, 2005). Es importante mencionar que otros monoterpenos actúan e inhiben la acetilcolinesterasa, como es el caso del 1,8-cineol, (Figura 19), (Mills *et al.*, 2004). En el análisis del transcriptoma demostró inhibición de tres enzimas, carboxilesterasa, glutatión S- transferasa (desintoxicantes) y acetilcolinesterasa (conducción nerviosa), indicando que afecta al acarreador de hidrógenos bloqueando el flujo de electrones que interfieren en la síntesis de energía de la mitocondria, (Figura 20), (Liao *et al.*, 2016).

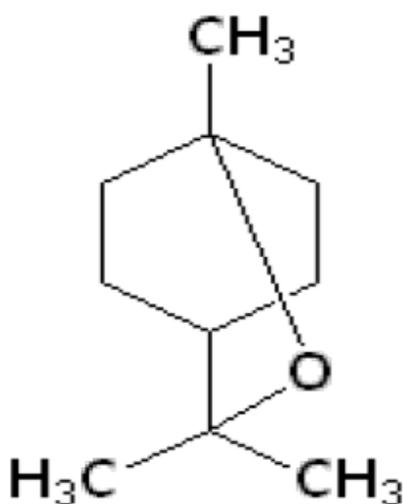


Figura 19. Estructura química del monoterpeneo 1,8 Cineol (Fuente: López & Pascual Villalobos, 2010).

ACEITES ESENCIALES

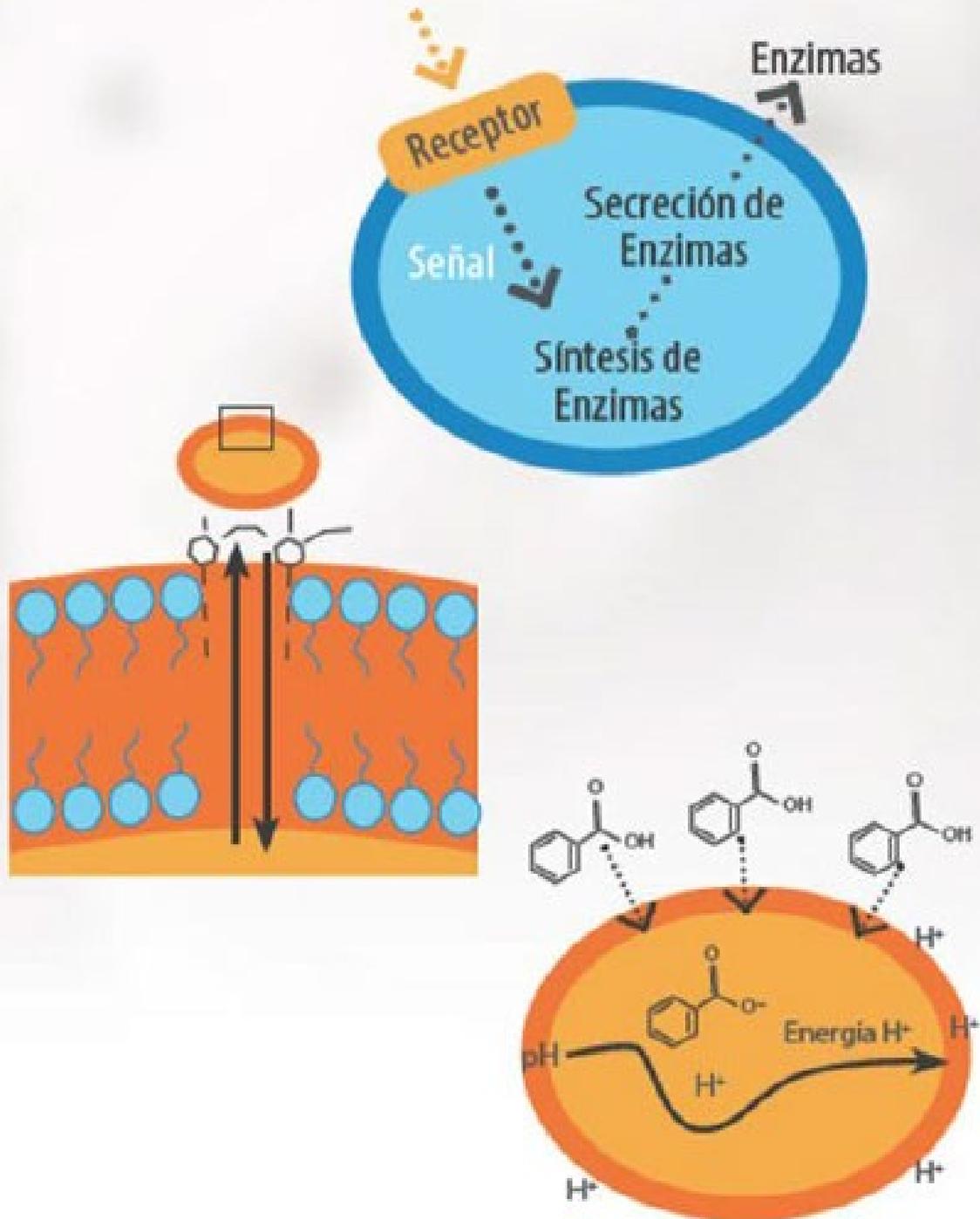


Figura 20. Mecanismo de acción de los aceites esenciales (Fuente: Trampe & Morales, 2017).

HIPÓTESIS

Los aceites esenciales obtenidos a partir de niaouli (*Melaleuca quinquenervia*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y orégano (*Origanum vulgare*) son efectivos como insecticidas y repelentes contra *S. zeamais*, sin que el aceite afecte la calidad del grano de maíz (*Zea mays*).

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de tres aceites esenciales sobre la calidad del grano de maíz durante su almacenamiento y sobre la mortalidad y repelencia de *S. zeamais*.

Objetivos Particulares

1. Determinar la mortalidad, la emergencia y el índice de repelencia de *S. zeamais* en cada uno de los aceites esenciales.
2. Determinar las concentraciones letales CL_{50} y CL_{99} de los aceites esenciales para el control de *S. zeamais*.
3. Evaluar el efecto de los aceites esenciales sobre la germinación y vigor del grano de maíz almacenado.
4. Evaluar el efecto de los aceites esenciales sobre la capacidad antioxidante del grano de maíz almacenado.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación fue realizada en los Laboratorios de Entomología y de Biotecnología del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) de la Universidad de Sonora, Unidad Centro, localizada en la ciudad de Hermosillo, Sonora, México.

Materia Prima

Obtención de Aceites Esenciales

Los aceites esenciales de Niaouli (*M. quinquenervia*), Eucalipto (*E. globulus*) y Orégano (*O. vulgare*), utilizados en este estudio fueron adquiridos del comercio local, de la tienda naturista “Jung Real Food” dirección Niños Héroes #75-D Colonia Centro, de la marca “Soria Natural”, presentación de 15 mL, distribuidos por la casa Herbofarm Madrid, España, los cuales fueron obtenidos por la técnica de hidrodestilación y arrastre de vapor de agua en gran escala con un grado de pureza de 99.99%.

Obtención de Maíz

El maíz seleccionado para este estudio fue el criollo blanco nacional y fue donado por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), libre de plagas, plaguicidas o compuestos químicos que pudiera afectar los resultados esperados.

Obtención de Insectos

Los insectos que fueron utilizados en este estudio son del género *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) del orden Coleoptera y de la familia Curculionidae obtenidos de los almacenes de maíz de la región del estado de Sonora y recolectados por personal de la Compañía Asistencia Técnica de Granos.

Identificación de *S. zeamais*

Para la identificación a nivel de especie de *S. zeamais* se siguieron los criterios recomendados por Gorham (1999). Los insectos recolectados fueron trasladados al Laboratorio de Entomología, y se utilizó un microscopio óptico y claves taxonómicas.

Cultivos Patrones de *S. zeamais*

Con la finalidad de obtener una reproducción en forma masiva, se elaboraron cultivos de insectos posteriormente a la identificación. Se utilizaron frascos de cristal con capacidad de 1 Litro donde fueron agregados 500 gramos de maíz y más 100 insectos adultos de *S. zeamais* que provinieron de la colonia identificada en el Laboratorio de Entomología. Previamente, los insectos habían sido sometidos a un proceso de limpieza, para lo cual se les aplicó un lavado con agua jabonada e hipoclorito al 2% y un enjuague con agua destilada, con el propósito de utilizar insectos limpios y libres de cualquier residuo o infestación de otros microorganismos. Después de esto, los frascos fueron cubiertos con una tapa de metal y malla metálica n°24 que fue recubierta con papel filtro Whatman n°125 diseñado para evitar la salida del insecto y asegurar entrada de aire. Se sellaron con el uso de cinta Masking tape, el material fue etiquetado con nombre, fecha de infestación, tipo de grano e insecto. Los insectos se incubaron a condiciones de temperatura de 27 °C, humedad relativa de 70% y a un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad consideradas condiciones óptimas y adecuadas del periodo. Después de los 9 días que se llevó a cabo la oviposición, los insectos progenitores fueron retirados de los frascos quedando los granos infestados. Se determinó el periodo de incubación de los insectos a los 45 días hasta la emergencia de la nueva generación (progenies F1). Los nuevos insectos con 5 días de emergidos se emplearon para infestar las muestras de grano de maíz en los bioensayos de mortalidad, emergencia y repelencia.

Pruebas Entomológicas

Exposición de *S. zeamais* a los Aceites Esenciales

Determinación de la Mortalidad

Para evaluar la mortalidad fueron utilizados vasos plásticos marca Inix de 200 mL con modificaciones en la parte superior de la tapa en donde fue pegado con silicón una esponja absorbente de poliuretano de 0.5 cm x 0.5 cm. En los vasos fueron colocados 20 gramos de maíz y después 10 insectos de *S. zeamais*. Se continuó con la aplicación de los aceites esenciales sobre las esponjas en volúmenes de 0 (control), 100, 200 y 300 µL. Los vasos fueron sellados con papel Parafilm e incubados a condiciones de temperatura de 27 °C, humedad relativa de 70% y a un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad. Posteriormente en los periodos de tiempo de exposición de 24, 48 y 72 h fue realizado el conteo de los insectos vivos y muertos y se hizo la comparación con el control. En el parámetro de mortalidad fue considerado como muertos a todos los insectos que no mostraron movimientos ante la punción con aguja de disección entomológica. Fueron calculados el porcentaje de mortalidad mediante la fórmula de Abbott (1925):

$$\% \text{ Mortalidad} = \left[\frac{100 (\%mt - \%mc)}{100 - \%mc} \right] \times 100$$

Dónde:

mt: muertos tratados

mc: muertos control

Determinación de la Emergencia

Una vez terminada las pruebas de mortalidad, las muestras de maíz fueron dejadas en vasos plásticos marca Inix de 200 mL anteriormente descritos y fueron incubadas a condiciones de temperatura de 27 °C, humedad relativa de 70% y a un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad. Se esperó 45 días donde se consideró el tiempo para completar el ciclo biológico del insecto y para verificar si se presentaba la nueva progenie (F1). En el caso en que se observó la emergencia de la nueva generación de insectos, éste fue cuantificado directamente contando el número de insectos emergidos en cada uno de los tratamientos y comparados con las muestras controles a diferentes tiempos de exposición de 24, 48 y 72 h.

Determinación de la Repelencia

Para evaluar la repelencia se realizó una adaptación a la metodología de Dall Bello & Padín (2006). En el experimento fueron diseñados olfatómetros entomológicos, consistiendo en 2 vasos plásticos marca Inix de 200 mL, presentando modificaciones: los vasos fueron perforados en las partes laterales agregándose transversalmente un popote transparente marca Reyma con 6 cm, 2.6" y ¼ A, en el cual se realizó una perforación central, en la tapa fue pegado con silicón una esponja absorbente de poliuretano de 0.5 x 0.5 cm. En los vasos fueron colocados 25 granos de maíz (cantidad que fue considerada para atngir el nivel del popote), posteriormente, en uno de los vasos, siguió la aplicación de los aceites esenciales sobre las esponjas en volúmenes de 100, 200 y 300 µL y en el otro vaso se puso 0 µL (control). Después fueron agregados 10 insectos de *S. zeamais* en la perforación anteriormente mencionada. Los vasos y la perforación fueron sellados herméticamente con papel Parafilm e incubados a condiciones de temperatura de 27 °C, humedad relativa de 70% y a un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad, donde se observó el comportamiento de los insectos en el periodo de tiempo de exposición de 24, 48 y 72 h.

Mediante la evaluación por la técnica de olfatometría se discriminó dos conductas: 1. Insectos que eligieron la fuente aromática por preferencia, dirigiéndose hacia los granos con tratamiento (aceites esenciales) y 2. Insectos que se alejaron de la fuente aromática por repelencia, dirigiéndose hacia los granos sin tratamiento (control). Después de los tiempos indicados, se retiró los recipientes plásticos de la incubadora y fue contado la preferencia y repelencia de los insectos hacia los aceites esenciales y el control. Se calculó el índice de repelencia, utilizando la formula descrita por Mazzonetto (2002).

$$IR = \frac{2G}{(G+P)}$$

Dónde:

IR: Índice de repelencia

G: Porcentaje de insectos presentes en el tratamiento

P: Porcentaje de insectos presentes en el testigo

El grano según la repelencia se clasificó como:

IR=1: tratamiento neutro

IR>1: tratamiento atrayente

IR<1: tratamiento repelente

Determinación de las Dosis Letales CL₅₀ y CL₉₉

De acuerdo con lo recomendado por Ebadollahi & Mahboubi (2011) se planteó convertir el % de mortalidad en Probits (unidad de probabilidad) Analysis de Finney, (1952) a los datos para determinar cuál sería la relación entre las concentraciones letales media CL₅₀ y máxima CL₉₉ para exterminar el 50% y 99% de los insectos

expuestos a los tres aceites esenciales. Los cálculos fueron obtenidos en el paquete estadístico NCSS versión 2007.

Pruebas de Calidad

Exposición del Maíz a los Aceites Esenciales

Determinación de la Germinación y Vigor

Este estudio consistió en la evaluación del efecto que tiene los aceites esenciales de Niaouli, Eucalipto y Orégano en el tratamiento del grano de maíz blanco sobre la germinación y el vigor utilizando las Reglas Internacionales para el Análisis de las Semillas ISTA (2016) con modificaciones. Para este fin, se pesaron 10 lotes de 200 gramos de maíz criollo blanco nacional de cosecha reciente y éstos fueron colocados en frascos de cristal con capacidad de 1 Litro. En la parte superior de la tapa fue pegado con silicón una esponja absorbente de poliuretano de 4.0 x 3.0 cm, utilizada para aplicar los aceites esenciales en los volúmenes de 0 (control), 100, 200 y 300 μL . Los frascos fueron sellados con papel Parafilm e incubados a condiciones de temperatura de 27 °C, humedad relativa de 70% y a un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad durante 31 días. Después de pasado el tiempo, fueron seleccionados 300 granos por frasco sin estar dañados, para realizar las pruebas en triplicado. Estos granos fueron colocados en charolas de 50 x 40 cm de 100 cavidades utilizando como medio de sustrato papel Kim Pak y sanitas esterilizadas. Una vez colocados, estos granos fueron llevados a una germinadora automática de doble cámara, marca Seedburo Equipment Company, modelo 1000 FAAT, con condiciones de temperatura de 25 °C y humedad relativa de 100%, durante 8 días. Los conteos de germinación fueron realizados después de los 8 días, evaluando el crecimiento de plántulas normales, plántulas anormales y semillas no germinadas. La determinación del vigor de las semillas fue basada en los ensayos de crecimiento y evaluación de la emergencia de plántulas crecidas normales, después de los 8 días, seleccionando 5

plantas aleatoriamente. En este estudio fue medido la longitud de plántula, longitud de raíz principal y longitud de tallo, con ayuda de una regla de 30 cm, número de raíces laterales y peso total de las plántulas utilizando una balanza Ainsworth CR-603D (ISTA, 2016).

Determinación de la Actividad Biológica

Este estudio consistió en la evaluación del efecto que tiene los aceites esenciales de Niaouli, Eucalipto y Orégano en el tratamiento del grano de maíz blanco sobre la cuantificación de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante por DPPH y ABTS (métodos espectrofotométricos). Para este fin, se pesaron 10 lotes de 100 gramos de maíz criollo blanco nacional de cosecha reciente y éstos fueron colocados en frascos de cristal con capacidad de 500 mL, en la parte superior de la tapa fue pegado con silicón una esponja absorbente de poliuretano de 4.0 x 3.0 cm, utilizada para aplicar los aceites esenciales en los volúmenes de 0 (control), 100, 200 y 300 μ L. Los frascos fueron sellados con papel Parafilm e incubados a condiciones de temperatura de 27 °C, humedad relativa de 70% y a un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad durante 31 días.

Obtención de la Harina de Maíz

Para obtener la harina de maíz, primeramente, se pesaron los lotes de 100 gramos de cada muestra tratada con los aceites esenciales en los volúmenes de 0 (control), 100, 200 y 300 μ L, utilizando una balanza Seedburo Equipment Company 8850. Estos granos fueron almacenados en bolsas plásticas de Ziploc de 16.5 x 14.9 cm y congeladas a -57 °C en un ultra congelador Thermo Electron Corporation durante 2 días. Posteriormente las muestras se liofilizaron a -52 °C en un liofilizador Labconco durante 4 días con la finalidad de remover el contenido de agua presente en el maíz. Enseguida, los granos de maíz liofilizados se molieron en un molino Thomas Wiley Laboratory Mill 4, obteniendo una harina con un tamaño de partícula de 2.0 mm. Para obtener un tamaño de partícula menor se empleó otro molino Perten Instruments

Laboratory Mill 3100, obteniendo una harina con un tamaño de partícula de 0.5 mm. Después se tamizó en un tamiz Seedburo Equipment Company N° 40 USA Standard Testing Sieve para obtener un tamaño de partícula de 0.425 mm. Todas las harinas fueron pesadas obteniendo el peso total seco (Tabla 4).

Tabla 4. Peso total seco de las harinas de maíz.

Muestras	*Vol. (µL)	Peso total de las harinas (g)
Control (Maíz)	0	72.5
Maíz + Niaouli	100	77.0
Maíz + Niaouli	200	75.0
Maíz + Niaouli	300	64.7
Maíz + Eucalipto	100	64.3
Maíz + Eucalipto	200	72.3
Maíz + Eucalipto	300	71.5
Maíz + Orégano	100	73.9
Maíz + Orégano	200	78.5
Maíz + Orégano	300	75.0

*Volumen en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz.

Obtención de los Extractos y Muestras de Maíz

Para obtener los extractos de maíz, se utilizó la metodología según Morales - Del- Rio *et al.* (2015) con modificaciones. Primeramente, se pesaron 5 gramos de cada una de las harinas por duplicado, se les añadieron 20 mL de metanol (MeOH). Las suspensiones obtenidas fueron homogenizadas, siendo posteriormente sometidos a sonicación por 30 min en un sonicador Branson 1800 a 68 °C, agitadas durante 12 h en un shaker Burrel Wrist Action 75 protegido de luz a 200 rpm. Después fueron centrifugadas a 4.000 rpm a 4 °C por 15 min en una centrifuga Thermo Scientific Heraeus Biofuge Primo R. Los sobrenadantes (extractos) fueron evaporados a sequedad utilizando un rotavapor IKA´ RV 10 digital a 65 rpm a 40 °C. Posteriormente los extractos concentrados fueron pesados utilizando una balanza Ohaus Pioneer. Finalmente, se resuspendieron en 2 mL de metanol (MeOH). Se calcularon los porcentajes de rendimientos en (g) extracto/(g) muestra (Tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje de rendimiento de los extractos secos de maíz.¹

Muestras	*Vol. (µL)	Peso Inicial Muestra Harina (g)	Peso Extracto (g)	(g) Extracto/ (g) Muestra	% Rendimiento (g) Extracto/ (g) Muestra
Control (Maíz)	0	5	0.106 ^a ±0.001	0.021 ^a ±0.000	2.12 ^a ±0.028
Maíz + Niaouli	100	5	0.221 ^{ab} ±0.006	0.044 ^{ab} ±0.001	4.43 ^{ab} ±0.127
Maíz + Niaouli	200	5	0.217 ^{ab} ±0.029	0.043 ^{ab} ±0.005	4.34 ^{ab} ±0.593
Maíz + Niaouli	300	5	0.279 ^{ab} ±0.113	0.055 ^{ab} ±0.022	5.59 ^{ab} ±2.276
Maíz + Eucalipto	100	5	0.212 ^{ab} ±0.050	0.042 ^{ab} ±0.010	4.25 ^{ab} ±1.004
Maíz + Eucalipto	200	5	0.081 ^a ±0.005	0.016 ^a ±0.001	1.62 ^a ±0.113
Maíz + Eucalipto	300	5	0.405 ^b ±0.116	0.081 ^b ±0.023	8.11 ^b ±2.333
Maíz + Orégano	100	5	0.140 ^{ab} ±0.140	0.028 ^{ab} ±0.028	2.81 ^{ab} ±2.81
Maíz + Orégano	200	5	0.294 ^{ab} ±0.038	0.058 ^{ab} ±0.007	5.88 ^{ab} ±0.763
Maíz + Orégano	300	5	0.087 ^a ±0.006	0.017 ^a ±0.001	1.75 ^a ±0.127

*Volumen en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz (por duplicado).

¹Los valores son el promedio de dos réplicas ± desviación estándar.

Los extractos metanólicos de las muestras fueron evaluados a una concentración de 0.02 g/mL para observar el comportamiento en la cuantificación del contenido de fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante por DPPH y ABTS.

Cuantificación de Fenoles y Flavonoides Totales

Para determinar los fenoles totales del maíz y de los aceites esenciales, se utilizó la técnica de Folin - Ciocalteu según Eldeen *et al.* (2011). Primeramente, se preparó la solución de Folin 1N con agua destilada. Posteriormente, se preparó una solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20%. Para la medición de las muestras se utilizó una placa de 96 pocillos Sigma Aldrich, colocando 10 μL de muestra + 25 μL de solución de Folin 1N. Se dejó en reposo durante 5 minutos. Posteriormente a todas las muestras se agregaron 25 μL de carbonato de sodio al 20% y 140 μL de agua destilada para llegar al volumen final de 200 μL .

Después de colocar la muestra en el último pocillo se dejó reposar durante 30 minutos y se determinó la absorbancia a 760 nm utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan. Se realizó una curva con el estándar ácido gálico en metanol cuyo rango de concentración fue de 0-1 mg/mL. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mgEAG/g). Todas las muestras se evaluaron por triplicado.

Para determinar los flavonoides totales del maíz y de los aceites esenciales, se utilizó la técnica de método colorimétrico según Venu *et al.* (2012). Primeramente, fue preparada la solución etanólica de tricloruro de aluminio (AlCl_3) 20 g/L. Para la medición de las muestras fue utilizado una placa de 96 pocillos Sigma Aldrich, donde se colocaron 80 μL de muestra + 80 μL de solución etanólica de tricloruro de aluminio, para llegar a un volumen final de 160 μL .

Después de colocar la muestra en el último pocillo se dejó reposar durante 1 hora en oscuridad a una temperatura de 25 °C y se determinó la absorbancia a 415 nm

utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan. Se realizó una curva con la estándar quercetina en metanol cuyo rango de concentración fue de 0-0.1 mg/mL. Los resultados fueron expresados como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de muestra (mgEQ/g). Todas las muestras se evaluaron por triplicado.

Cuantificación de Antioxidantes por el Método de DPPH y ABTS

Para determinar la actividad antioxidante del maíz y de los aceites esenciales, se utilizó la técnica de DPPH según Molyneux (2004). Primeramente, fue preparado el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) para ello fue pesado 2.5 mg del radical siendo posteriormente disuelto en 50 mL de metanol (MeOH). La solución fue mezclada y obtenida en un color púrpura. Se ajustó a una absorbancia de 0.7 ± 0.01 en una longitud de onda de 515 nm utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan. Para la medición de las muestras fue utilizado una placa de 96 pocillos Sigma Aldrich, donde se colocaron en el orden por triplicado: radical DPPH (220 μ L); radical DPPH (200 μ L) + metanol (20 μ L) y radical DPPH (200 μ L) + muestra (20 μ L).

Después de colocar la muestra en el último pocillo se dejó reposar durante 30 minutos. Posteriormente se midió a una longitud de onda de 515 nm. Los resultados fueron reportados como % de inhibición, el cual fue el porcentaje que la muestra atrapa al radical.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{absorbancia control} - \text{absorbancia muestra}}{\text{absorbancia control}} \times 100$$

Para determinar la actividad antioxidante del maíz y de los aceites esenciales, se utilizó la técnica de ABTS según Manach *et al.* (2004). Primeramente, fue preparado el radical de la solución stock. Para la solución A se pesó 19.3 mg de ABTS (2,2'-Azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido-sulfónico) siendo posteriormente disuelto en 5 mL de agua destilada. Para la solución B se pesó 37.8 mg de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) siendo posteriormente disuelto en 1 mL de agua destilada. De la solución B se tomó 88 μ L y

se le agregó a la solución A. La solución fue mezclada y dejada en reposo en la oscuridad entre 12 h a 16 h a temperatura ambiente. La solución C obtenida fue en un color azul intenso.

Para preparar la solución de trabajo del radical se tomó 1 mL de la solución C y se agregó 88 mL de etanol (C₂H₆O). La solución D obtenida se ajustó a una absorbancia de 0.7 ± 0.01 a una longitud de onda de 734 nm utilizando un espectrofotómetro Thermo Scientific Multiskan. Para la medición de las muestras fue utilizado una placa de 96 pocillos Sigma Aldrich, donde se colocaron en el orden por triplicado: radical ABTS (290 μ L); radical ABTS (270 μ L) + metanol (20 μ L) y radical ABTS (270 μ L) + muestra (20 μ L).

Después de colocar la muestra en el último pocillo se dejó reposar durante 30 minutos. Posteriormente se midió a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados fueron reportados como % de inhibición, el cual fue el porcentaje que la muestra atrapa al radical.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{absorbancia control} - \text{absorbancia muestra}}{\text{absorbancia control}} \times 100$$

Diseño Experimental

Pruebas Entomológicas

Se utilizó un diseño factorial completamente al azar para un insecto y tres diferentes aceites esenciales a cuatro volúmenes de 0, 100, 200 y 300 μL , a tres tiempos de exposición de 24, 48 y 72 h teniendo respectivamente 3 repeticiones. Las variables respuesta medidas fueron el porcentaje de mortalidad, emergencia y repelencia.

Pruebas de Calidad

Se utilizó un diseño factorial completamente al azar para un tipo de maíz y tres diferentes aceites esenciales a cuatro volúmenes de 0, 100, 200 y 300 μL , con un tiempo de exposición de 31 días teniendo respectivamente 3 repeticiones. Las variables respuesta medidas fueron el porcentaje de germinación, vigor, fenoles totales, flavonoides totales, DPPH y ABTS.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos de las pruebas entomológicas de mortalidad, emergencia y repelencia y de las pruebas de calidad del grano de germinación, vigor y sobre la actividad biológica (antioxidante) en la cuantificación de fenoles totales, flavonoides totales, DPPH y ABTS, fueron analizados por estadística descriptiva y análisis de varianza (ANOVA). Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico de cómputo InfoStat versión 2018 mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, considerando el intervalo de confianza del 95% ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En este apartado, se expone los resultados de la evaluación de los aceites esenciales de Niaouli (*M. quinquenervia*), Eucalipto (*E. globulus*) y Orégano (*O. vulgare*) como método de control alternativo del insecto *S. zeamais*, además, también se expone los resultados de la evaluación sobre la germinación y el vigor y sobre la actividad biológica (antioxidante) en la cuantificación de fenoles totales, flavonoides totales, DPPH y ABTS al grano de maíz (*Z. mays*).

Pruebas Entomológicas

Porcentaje de mortalidad de *S. zeamais*

Los aceites esenciales de Niaouli y Eucalipto mostraron los mejores resultados, siendo más eficientes por controlar y causar una mortalidad de 100% de los insectos en todos los tratamientos y en los tres tiempos evaluados ($p < 0.05$). El aceite esencial de Orégano fue el que mostró menor eficiencia de control causando mortalidad en diferentes porcentajes, siendo el más deficiente en los tratamientos de 100, 200 y 300 μL en el tiempo de 24 h ($p < 0.05$) (Tabla 6). Según el criterio propuesto por Lagunes, (1994), recomienda que la utilización de cualquier producto de origen botánico y que sea favorable en provocar una tasa de mortalidad superior al 50% es prometedor, por lo cual en los volúmenes de 100 y 200 μL en el tiempo de 24 h no cumplen con este requisito, pero aún sí, se puede considerar su utilización como un buen producto para el control, visto que, los demás tratamientos superaron el 50% de mortalidad. Como se puede observar, el índice de mortalidad de los insectos con la utilización de los tres aceites esenciales va en incremento conforme aumenta la dosis aplicada en todos los tratamientos y tiempos de exposición, cabe mencionar que ellos están entre el umbral de control, superando el 50% y llegando hasta el 100% de mortalidad en la mayoría de los tratamientos. Esta efectividad depende de varios factores como la concentración del aceite aplicado y el tiempo de exposición.

Tabla 6. Porcentaje de mortalidad de *S. zeamais* en maíz expuestos a los aceites esenciales.^{1,2}

*Vol. (μ L)	Niaouli (<i>M. quinquenervia</i>)			Eucalipto (<i>E. globulus</i>)			Orégano (<i>O. vulgare</i>)		
	Tiempo (h)			Tiempo (h)			Tiempo (h)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
100	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	30.0 ^a \pm 1.0	90.0 ^b \pm 0.0	100.0 ^c \pm 0.0
200	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	40.0 ^a \pm 1.0	96.0 ^{bc} \pm 0.5	100.0 ^c \pm 0.0
300	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	100.0 ^a \pm 0.0	50.0 ^a \pm 1.0	100.0 ^c \pm 0.0	100.0 ^c \pm 0.0

*Volúmenes en μ L de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz y el insecto.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Cabe señalar que los resultados de mortalidad en el presente trabajo fueron similares entre a los reportados en otros estudios: Pino *et al.* (2011), evaluaron la actividad plaguicida del aceite esencial de Niaouli en dosis de 2.5% a las 24 h contra 4 diferentes ácaros: *Tetranychus tumidus*, *Tetranychus urticae*, *Panonychus citri* utilizando el método de microinmersión y *Raoiella indica* utilizando el método de aspersión, reportando 100% de mortalidad en *T. urticae*, *P. citri* y *R. indica* y 88.73% en *T. tumidus*. Vargas Rodríguez *et al.* (2015), evaluaron la acción fumigante del mismo aceite esencial con dosis de 3 y 4 mL durante 4 y 6 días, reportando 89.16 y 100% de efectividad contra el insecto *Lasioderma serricorne*. Castro *et al.* (2006), evaluaron la actividad insecticida del aceite esencial de Eucalipto en dosis de 50 µL durante 5 días de exposición contra *Sitophilus zeamais* reportando una toxicidad por contacto de 100%. Mossi *et al.* (2011) evaluaron la actividad insecticida del mismo aceite esencial en dosis de 0.23 y 0.29 µL/cm² a las 24 h de exposición contra *Sitophilus zeamais* reportando una toxicidad por contacto de 94 y 100%.

Padín *et al.* (2000), evaluaron la actividad insecticida del aceite esencial de Orégano en dosis de 100, 200 y 300 µL a las 72 h de exposición contra *Tribolium castaneum* reportando una mortalidad de 100%. Chávez-Díaz *et al.* (2016), evaluaron la actividad insecticida del mismo aceite esencial en dosis de 5 µL/g y 10 µL/g a las 2, 4, 6, 24, 48 y 72 h reportando una mortalidad acumulada de 9.9% con 5 µL/g y de 46.5% con 10 µL/g contra *Acanthoscelides obtectus*. Es importante mencionar que la metodología utilizada por estos autores no es homologable con la presente investigación, ya que en este estudio la atmósfera fue saturada por volátiles sin estar el aceite en contacto directo con el grano y con el insecto.

Otros autores han estudiado las fracciones volátiles de los aceites esenciales, siendo los resultados similares con la presente investigación: Reyes-Guzmán *et al.* (2012), utilizaron la fracción volátil de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus camaldulensis* para evaluar la actividad insecticida contra *Rhyzopertha dominica*, utilizando dosis de 5, 10 y 15 µL a las 24, 48 y 72 h observando que el aceite de *E. globulus* causó una mortalidad de 100% de los insectos con todas las dosis aplicadas y en todos los

tiempos de exposición. El aceite de *E. camaldulensis* causó una mortalidad máxima del 32% con la mayor dosis y mayor tiempo de exposición. Corral *et al.* (2017), utilizaron la fracción volátil de *Ricinus communis* para evaluar la actividad insecticida contra el mismo insecto, utilizando dosis de 25, 50 y 80 μ L en los mismos tiempos de exposición observando que el aceite en la dosis de 25 μ L a las 24 h causó una mortalidad máxima de 85% de los insectos, a las 48 h 90% y a las 72 h 100%, indicando que el porcentaje de mortalidad va en incremento conforme aumenta el tiempo de exposición, las dosis de 50 y 80 μ L causó una mortalidad de 100% en todos los tiempos evaluados.

Los aceites esenciales y especies vegetales han presentado un excelente potencial bioinsecticida y un futuro promisorio contra insectos de interés agronómico como son con los coleópteros plagas *S. zeamais*. Assis *et al.* (2014), estudiaron dos extractos: *Annona squamosa* en una dosis de 5 mL y *Piper nigrum* en una dosis de 14 mL para el control de *S. zeamais* observando mortalidades de 100 y 98% respectivamente. Betancur *et al.* (2010), estudiaron el aceite esencial de *Peumus boldus* para el control de *S. zeamais*, utilizando diferentes metodologías: utilizaron dosis de 4% a las 24, 48 y 72 h en una superficie de contacto presentando 100% de mortalidad, con la misma dosis y tiempos de exposición en granos tratados lograron 98.75% de mortalidad. Los resultados obtenidos en el trabajo anterior concuerdan con Herrera-Rodríguez *et al.* (2015) estudiando el mismo aceite esencial y el aceite de *Laureliopsis philippiana* en la misma dosis a las 24 y 48 h presentando 100% de mortalidad contra *S. zeamais* con las dos metodologías: superficie de contacto y expuestos a los granos tratados. En el estudio de Betancur *et al.* (2010), con la dosis de 35 μ L a las 6, 12 y 24 h con una acción fumigante obtuvieron 100% de mortalidad de *S. zeamais*. En otro estudio realizado por González-Guiñez *et al.* (2016), la dosis de 35 μ L del efecto fumigante de *Eucaliptus globulus* y *Eucaliptus nitens* causaron una mortalidad de *S. zeamais* en 82.1 y 89.7% respectivamente.

Kordali & Yildirim, (2013), estudiaron la toxicidad fumigante del aceite esencial de *Achillea gypsicola* con dosis de 5 μ L/L a las 96 h de exposición presentando 100% de

mortalidad de *S. zeamais*. Obembe & Kayode, (2018), estudiaron el polvo de *Hura crepitans* en una dosis de 0.8 g a los 8 días presentando 100% de mortalidad de *S. zeamais*, mientras que el aceite esencial con las dosis de 1.5 y 2.0% a los 4 y 8 días también mostraron 100% de mortalidad. Pinto *et al.* (2016), estudiaron el polvo de *Cryptocarya alba* con una dosis de 80 g/Kg a las 48 h presentando 85% de mortalidad de *S. zeamais*, mientras que el aceite esencial con la dosis de 40 mL/Kg al mismo tiempo de exposición presentó 94% de mortalidad. Vallejo-González *et al.* (2016), estudiaron los aceites esenciales de: *Tagetes lucida* utilizando dosis de 4,5,6 y 7 μ L/mL y *Cosmos bipinnatus* con la dosis de 3 μ L/mL por 7 días, presentando 100% de mortalidad contra *S. zeamais*. Torres *et al.* (2014), estudiaron el aceite esencial de *Laurelia sempervirens* con las dosis de 10, 20 y 40 mL/Kg por 15 días, presentando 100% de mortalidad de *S. zeamais*.

Porcentaje de emergencia de *S. zeamais*

La nueva generación llamada progenie F1 (primera generación del cruzamiento) emerge después de completar el ciclo biológico del insecto, sin embargo, solo se presentó nueva generación de *S. zeamais* en los controles y en los tres tiempos evaluados, siendo así, los tres aceites esenciales favorecieron para que no se presentara oviposición (huevecillos desarrollados por las hembras) y emergencia de nuevos insectos, estos resultados muestran que no hay diferencia significativa entre ellos (Tabla 7).

Pereira (2006), estudiaron el efecto del aceite esencial de Niaouli por contacto utilizando dosis de 10, 20, 30, 40 y 50 μ L/20g en granos de frijol caupí para el control de *Callosobruchus maculatus* evaluando huevecillos viables a los 12 días y emergencia a los 32 días, siendo efectivo en la reducción del número de huevecillos y de insectos adultos. Según Don Pedro (1989), indica que la principal causa de la muerte de los huevecillos de brúquidos es debido a la falta de oxígeno, acumulación de metabolitos tóxicos y toxicidad del contacto directo de los aceites esenciales sobre

el mismo. Reyes-Guzmán *et al.* (2012), lograron con el aceite esencial de Eucalipto la inhibición de la Progenie F1 de *Rhyzopertha dominica* apenas en las dosis más altas de 10 y 15 μL y con un mayor tiempo de exposición 72 h, indicando que las dosis influyen directamente teniendo mayor efecto en la oviposición. Çalmaşur *et al.* (2006), estudiaron el vapor del aceite esencial de Orégano utilizando dosis de 2, 4, 6 y 8 $\mu\text{L/L}$, durante las 24, 48, 96 y 120 h para el control de ninfas y adultos de *Tetranychus urticae*, siendo más efectivo el control con la dosis más elevada y al mayor tiempo de exposición.

Tabla 7. Porcentaje de emergencia de *S. zeamais* en maíz expuestos a los aceites esenciales.^{1,2}

*Vol. (µL)	Niaouli (<i>M. quinquenervia</i>)			Eucalipto (<i>E. globulus</i>)			Orégano (<i>O. vulgare</i>)		
	Tiempo (h)			Tiempo (h)			Tiempo (h)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
0	43.0 ^a ±2.3	67.0 ^b ±4.1	17.0 ^c ±1.1	63.0 ^a ±5.0	30.0 ^b ±2.5	60.0 ^a ±3.0	30.0 ^a ±1.7	70.0 ^b ±1.3	30.0 ^a ±1.0
100	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0
200	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0
300	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0	0.0 ±0.0

*Volúmenes en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz y el insecto.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Otros estudios han reportado la utilización de los aceites esenciales y extractos de especies vegetales sobre la inhibición de la emergencia de insectos. Nukenine *et al.* (2010), estudiaron el aceite esencial de *Plectranthus glandulosus* en dosis de 10, 20, 40 y 80 μ L en una superficie de contacto con 40 gramos de maíz siendo evaluados posteriormente a las 5 semanas de infestación para el control de *Sitophilus zeamais* y *Prostephanus truncatus*, el aceite suprimió la emergencia de la Progenie F1 de *S. zeamais* en 100% en las dosis de 20, 40 y 80 μ L, ya que en *P. truncatus* la Progenie F1 fue inhibida en 100% en la dosis más alta de 80 μ L. Nukenine *et al.* (2011), estudiaron tres tratamientos botánicos derivados de *Azadirachta indica*: NeemAzal en polvo en dosis de 1.5, 3, 6 y 12 g/Kg, polvo de semilla de Neem en dosis de 5, 10, 20 y 40 g/Kg, aceite de semilla de Neem en dosis de 2, 4, 6 y 8 mL/Kg y uno polvo de la hoja de *P. glandulosus* en las mismas dosis del polvo de semilla de Neem en una superficie de contacto con 50 g de maíz siendo evaluados posteriormente a las 5 semanas de infestación para el control de *S. zeamais*. El aceite de la semilla de Neem suprimió la emergencia de la Progenie F1 en mayor grado que los demás productos, aunque la eficacia fue muy cercana a los de polvo de semilla de Neem y NeemAzal. Los polvos de las semillas de Neem inhibieron en mayor grado la producción de la Progenie en comparación con el polvo de *P. glandulosus*, cuando el grano fue tratado con 4, 6 y 8 mL/Kg de aceite de semilla de Neem, 10, 20 y 40 g/Kg de polvo de semilla de Neem y 12 g/Kg de polvo de NeemAzal. La mayor dosis de polvo de *P. glandulosus* 40 g/Kg suprimió la emergencia de la Progenie F1 en un 94.9%, estos análisis indican en ambos trabajos de Nukenine, que las mayores concentraciones aplicadas influyeron positivamente en los resultados del ensayo.

Suleiman *et al.* (2012), estudiaron el polvo de Permetrina en la dosis de 0.12 g para el control de *S. zeamais* en una superficie de contacto con 20 gramos de sorgo, siendo muy eficaz provocando 100% de la mortalidad y favoreciendo que no se presentara oviposición y emergencia de la Progenie F1 de los insectos.

Índice de repelencia de *S. zeamais*

Comparando los resultados de repelencia obtenidos en la (Tabla 8), según lo descrito por Mazzonetto (2002), se observa que del total de los tratamientos (54) utilizados en la prueba, 19 fueron tratamientos atrayentes (>1), 8 fueron tratamientos neutros ($=1$), y 27 fueron tratamientos repelentes (<1), indicando que los aceites esenciales fueron favorables repeliendo a los insectos en la mayoría de los tratamientos. Al comparar los índices de repelencia obtenidos en los diferentes tiempos de exposición de 24, 48 y 72 h, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p < 0.05$). Sin embargo, los tratamientos de Niaouli, Eucalipto y Orégano mostraron una leve diferencia en cuanto al índice de repelencia en el volumen de 300 μL en el tiempo de 72 h siendo de 0.4, 0.5 y 0.5 respectivamente ($p < 0.05$).

Los resultados de esta investigación concuerdan con Norambuena *et al.* (2016), que estudiaron el aceite esencial de *Laureliopsis philippiana* en dosis de 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0% (v/v) a las 24 h contra *Sitophilus zeamais*, *Sitophilus oryzae* y *Sitophilus granarius*, siendo todos los tratamientos repelentes contra las especies de insectos, con el índice de repelencia (<1). Para *S. zeamais* los IR observados en las dosis de 0.25 y 0.5% fueron de 0.8 y 0.9, las dosis más altas de 2.0 y 4.0% presentaron IR cercanos a cero (0.3 y 0.2), mencionando que las dosis mayores tienen un índice comparativamente menor lo que implica un mayor efecto repelente. Con relación a *S. oryzae* y *S. granarius* los valores de IR oscilaron entre 0.5 y 0.7. Los resultados también concuerdan con Bustos *et al.* (2017), que estudiaron los aceites esenciales de *Peumus boldus*, *Laurelia sempervirens* y *Laureliopsis philippiana* en dosis de 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 8.0% (v/v) a las 24 h contra *S. zeamais* presentando actividad repelente entre ambos tratamientos, con el índice de repelencia (<1), presentando IR más bajos en las dosis más altas de 4.0 y 8.0%. Para *P. boldus* los IR fueron 0.6 y 0.5, para *L. sempervirens* los IR fueron 0.4 y 0.3 y para *L. philippiana* los IR fueron 0.2 y 0.2. Ortiz *et al.* (2017), obtuvieron resultados similares del trabajo anterior estudiando estos mismos aceites esenciales en dosis de 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 y 8.0% a las 24 h contra *S.*

zeamais observando actividad repelente con todos los tratamientos, con el índice de repelencia (<1), con los IR más bajos en las dosis más altas de 2.0, 4.0 y 8.0%, para *L. philippiana* los IR fueron 0.6, 0.2 y 0.2, para *P. boldus* los IR fueron 0.7, 0.3 y 0.1 y para *L. sempervirens* los IR fueron 0.6, 0.6 y 0.3. Ortiz *et al.* (2012), reportaron resultados similares estudiando el aceite esencial de *Laureliopsis philippiana* en dosis de 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 y 4.0% (v/v) a las 24 h contra *S. zeamais* también se observó una actividad repelente en todos los tratamientos con el índice de repelencia (<1), presentando IR más bajos en las dosis más altas de 2.0 y 4.0%, los IR fueron 0.4 y 0.0. Jayasekara *et al.* (2005), indica en su estudio que insectos adultos de *S. zeamais*, son capaces de detectar los compuestos fitoquímicos a través del olfato, evitándolos cuando tiene oportunidad de elegir para lograr la supervivencia de la especie.

Cabe mencionar que en otros estudios los tres aceites esenciales de Niaouli, Eucalipto y Orégano fueron estudiados a través de cromatografía de gases masas con la finalidad de identificar los metabolitos como son los terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos y también los componentes fitoquímicos principales presentes en estas mezclas con alta actividad repelente. Ramanoelina *et al.* (2008), indican en su estudio que el aceite esencial de Niaouli contiene: E-nerolidol (95%), 1,8 cineol (71%), viridiflorol (36%), α -pineno (17%), α -terpineol (12%) y limoneno (12%). Rueda & Mogollón (2013), indican en su estudio que el aceite esencial de Eucalipto contiene: 1,8 cineol (82.27%), limoneno (3.70%), α -pineno (3.16%), guaiol (2.76%), terpinen-4-ol (1.4%), linalol (1.3%), α -terpineol (1.2%), β -mirceno (1.12%) y α -terpineno (1.1%). Acevedo *et al.* (2013), indican en su estudio que el aceite esencial de Orégano contiene: timol (67.51%), p-cimeno (11.66%), γ -terpineno (5.51%), cariofileno (5.38%), oxido de cariofileno (2.22%), trans- α -bergamoteno (1.65%), eugenol (1.49%) y α -bergamoteno (1.32%). Estos compuestos han sido ampliamente reportados por su actividad repelente y alta efectividad frente a los coleópteros plagas, que afectan a los productos almacenados, ofreciendo una excelente herramienta para el control (Olivero-Verbel *et al.*, 2013) y ha demostrado que pueden presentar una mejor actividad repelente que los insecticidas comerciales (You *et al.*, 2015). Cantó-Tejero *et al.* (2017), han estudiado diferentes aceites esenciales aplicando técnicas de

nanotecnología y emulsiones siendo favorables y presentando actividad repelente y de mortalidad contra pulgones de origen hortícola.

Tabla 8. Índices de repelencia de *S. zeamais* en maíz expuestos a los aceites esenciales.^{1,2}

*Vol. (µL)	Niaouli (<i>M. quinquenervia</i>)			Eucalipto (<i>E. globulus</i>)			Orégano (<i>O. vulgare</i>)		
	Tiempo (h)			Tiempo (h)			Tiempo (h)		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
0	1.3 ^a ±0.3	1.2 ^a ±0.5	1.2 ^a ±0.2	1.0 ^c ±0.1	1.2 ^a ±0.3	1.2 ^a ±0.5	1.6 ^b ±0.2	1.0 ^c ±0.5	1.3 ^a ±0.4
100	0.8 ^f ±0.3	0.8 ^f ±0.5	0.8 ^f ±0.2	0.9 ^g ±0.1	0.9 ^g ±0.3	0.8 ^f ±0.5	0.9 ^g ±0.2	0.9 ^g ±0.5	0.9 ^g ±0.4
0	1.1 ^a ±0.3	1.0 ^c ±0.3	1.4 ^c ±0.2	1.2 ^a ±0.3	1.0 ^c ±0.3	1.2 ^a ±0.2	1.1 ^a ±0.4	1.0 ^c ±0.2	1.0 ^c ±0.5
200	0.7 ^{ef} ±0.3	0.8 ^f ±0.3	0.6 ^{de} ±0.2	0.8 ^f ±0.3	0.7 ^{ef} ±0.3	0.7 ^{ef} ±0.2	0.8 ^f ±0.4	0.9 ^g ±0.2	0.6 ^{de} ±0.5
0	1.2 ^a ±0.3	1.3 ^a ±0.4	1.6 ^b ±0.2	1.2 ^a ±0.5	1.2 ^a ±0.3	1.0 ^c ±0.5	1.0 ^c ±0.3	1.2 ^a ±0.2	1.4 ^c ±0.2
300	0.6 ^{de} ±0.3	0.6 ^{de} ±0.4	0.4 ^d ±0.2	0.8 ^f ±0.5	0.7 ^{ef} ±0.3	0.5 ^h ±0.5	0.8 ^f ±0.3	0.8 ^f ±0.2	0.5 ^h ±0.2

*Volúmenes en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz y el insecto.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018. IR calculados según descrito por Mazzoneto (2002). IR=1 tratamiento neutro IR>1 tratamiento atrayente IR< 1 tratamiento repelente.

Estimaciones de las Dosis Letales CL₅₀ y CL₉₉

Fueron estimadas la toxicidad letal media CL₅₀ y máxima CL₉₉ de los tres aceites esenciales de Niaouli, Eucalipto y Orégano empleando el Análisis Probit usando el paquete estadístico NCSS versión 2007. No se logró la obtención de los cálculos para Niaouli y Eucalipto debido a que los datos de mortalidad resultaron muy altos en todos los volúmenes y tiempos de exposición (100%), pero, se presentó una excepción con el aceite esencial de Orégano en los tiempos de exposición de 24 y 48 h, como se describe a continuación.

Para el aceite esencial de Orégano a las 24 h después de su aplicación fueron obtenidas las CL₅₀ y CL₉₉ de 316 y 416 µL/L y a las 48 h de aplicación, las CL₅₀ y CL₉₉ fueron de 478 y 687 µL/L respectivamente, mientras que, para las 72 h no fue posible realizar la estimación ya que el programa estadístico no pudo calcular porque los datos de mortalidad resultaron muy altos (100%) (Tabla 9).

Tabla 9. Toxicidad del aceite esencial de Orégano por saturación de atmósfera contra *S. zeamais* en granos de maíz a diferentes tiempos de exposición.^{1,2}

Tiempo (h)	Inclinación ± error estándar	CL ₅₀ ¹ (IC a 95%) (µL/L)	CL ₉₉ ² (IC a 95%) (µL/L)	X ²	P
24	3.19 ±0.57	316	416	0.85	0.35
48	2.11 ±0.28	478	687	1.89	0.19
72	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Datos obtenidos del paquete estadístico NCSS 7.0 con un nivel de significancia ($p < 0.05$). Los datos se expresan en µL/L de aceite esencial.

¹Concentración Letal media que causa 50% de mortalidad.

²Concentración Letal máxima que causa 99% de mortalidad.

Según los resultados obtenidos en la presente investigación, se puede afirmar que el aceite esencial de Orégano presenta un efecto tóxico, sobre los adultos de *S. zeamais* por el método de saturación de atmósferas. La toxicidad puede ser atribuida al timol y

p-cimeno que se encuentran presentes en gran cantidad en su composición (Acevedo *et al.*, 2013). Según Lee *et al.* (2001) la toxicidad de los aceites esenciales de especies vegetales en contra de los insectos de productos almacenados se debe principalmente a su composición química.

Ebadollahi & Mahboubi (2011), estudiaron la toxicidad por fumigación del aceite esencial de *Azilia eryngioides* contra *Sitophilus granarius* y *Tribolium castaneum* en concentraciones de 37.03, 74.07, 111.11 y 148.14 $\mu\text{L/L}$, observaron que la mortalidad se vio incrementada conforme aumentaba la concentración del aceite y el tiempo de exposición, alcanzaron 100% de mortalidad en las dos concentraciones más elevadas de 111.11 y 148.14 $\mu\text{L/L}$ y en los tiempos superiores a 39 h. En otro ensayo determinaron la concentración media letal CL_{50} en 24 h de exposición en que *S. granarius* con una CL_{50} de 20.05 $\mu\text{L/L}$ fue más susceptible que *T. castaneum* con una CL_{50} de 46.48 $\mu\text{L/L}$ y presentó una excelente actividad insecticida sobre ambas especies. Algo similar ocurrió en el presente estudio, observando que a medida que se aumenta la concentración del aceite y el tiempo de exposición la mortalidad también aumenta.

En un estudio realizado por Martínez (2013), con el aceite esencial de *Lippia palmeri* sobre la mortalidad de *Prostephanus truncatus* y *Sitophilus zeamais* determinó la concentración media letal CL_{50} y CL_{90} en 24 h de exposición de 0.32052 $\mu\text{L/L}$ y 1.5589 $\mu\text{L/L}$ para *P. truncatus* y para *S. zeamais* fueron de 0.44145 1.1772 $\mu\text{L/L}$. En otro estudio realizado por Iturralde (2012), con los aceites esenciales de *Melaleuca viridiflora*, *Eucalyptus camaldulensis* y *Lippia palmeri* sobre la mortalidad de *Rhyzopertha dominica* determinó la concentración media letal CL_{50} en 24 h de exposición de 1.5, 8.9 y 12.3 $\mu\text{L/L}$ respectivamente. Los resultados obtenidos por estos autores indican que las concentraciones son posibles de ser calculadas por el programa NCSS versión 2007 Probit Analysis.

Mahmoudvand *et al.* (2011), estudiaron la toxicidad por fumigación de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis*, *Mentha pulegium*, *Zataria multiflora* y *Citrus*

sinensis contra *Tribolium castaneum*, *Sitophilus granarius*, *Callosobruchus maculatus* y *Plodia interpunctella* y determinaron la concentración media letal CL₅₀ y CL₉₀ del aceite de *C. sinensis* en 24 h de exposición para *T. castaneum* de 391.28 y 482.70 µL/L, para *S. granarius* de 367.75 y 508.91 µL/L y para *C. maculatus* de 223.48 y 332.80 µL/L. En 48 h de exposición para *T. castaneum* de 362.40 y 442.69 µL/L, para *S. granarius* de 320.45 y 456.48 µL/L y para *C. maculatus* de 207.17 y 275.83 µL/L. Para *S. granarius* se hizo una comparación del efecto fumigante del aceite esencial de *C. sinensis* con el de *M. pulegium*. El aceite de *M. pulegium* en 24 h de exposición presentó una CL₅₀ y CL₉₀ de 0.038 y 0.137 µL/L y a las 48 h de exposición presentó 0.025 y 0.091 µL/L respectivamente, siendo relativamente menores en comparación con *C. sinensis*. Para *P. interpunctella* utilizando los aceites esenciales de *R. officinalis* y *Z. multiflora* en 24 h de exposición presentó una CL₅₀ y CL₉₀ de 0.93 y 6.33 µL/L y 1.75 y 24.26 µL/L respectivamente.

Tapondjou *et al.* (2002), estudiaron bajo condiciones de laboratorio los polvos secos de hojas de *Chenopodium ambrosioides* contra *S. zeamais* y *S. granarius* utilizando granos de maíz mezclados con estos polvos que oscilaron entre 0.8 y 6.4%, presentando una mortalidad de 100% después de las 48 h de exposición.

Pruebas de Calidad

Porcentaje de Germinación

Según (ISTA, 2016), la germinación y la calidad de una semilla apta para germinar y desarrollar en una plántula normal es la principal condición para lograr el crecimiento de una planta con estructuras esenciales y satisfactorias en el campo, como son el sistema de raíces, eje del brote, cotiledones y coleóptilo. Moreno (1996), indica que la aptitud de los granos almacenados puede ser afectada por diversos factores ambientales o de manipulación y que una semilla comercial con buenos porcentos de germinación debe oscilar entre 90 y 100%.

En relación con el efecto de los aceites esenciales de Niaouli, Eucalipto y Orégano sobre la germinación del maíz se observó que todos los controles tuvieron porcentajes de germinación mayores que van del 86.4 al 89.7%, siendo satisfactorios para hacer la comparación con cada uno de los aceites y tratamientos aplicados, se observó que en el control del aceite de Orégano el porcentaje de plántulas anormales y semillas sin germinar presentaron una diferencia estadísticamente significativa, siendo de 4.4 y 6.0% respectivamente ($p < 0.05$). En los tratamientos de 100 μL de cada aceite se observó que tuvo porcentajes de germinación que van de 81.0 al 83.7%, sin embargo, el porcentaje de germinación disminuyó con los aceites de Niaouli a los 200 y 300 μL y Orégano a los 300 μL , observándose un mayor incremento del porcentaje de plántulas anormales y semillas sin germinar. El aceite de Niaouli fue el que presentó diferencias estadísticamente significativas, siendo a los 200 μL de 16.0 y 11.7% y a los 300 μL de 13.7 y 21.0% respectivamente ($p < 0.05$), ya el aceite de Orégano fue estadísticamente diferente comparados con los volúmenes de 100 y 200 μL , presentando 14.4 y 20.0% ($p < 0.05$). El aceite de Eucalipto en relación con el porcentaje de plántulas normales, plántulas anormales y semillas sin germinar cuando comparado con el control no fue afectado en ningún de los tratamientos y no se observó diferencias significativas ($p > 0.05$) (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de germinación de maíz expuestos a los aceites esenciales.^{1,2}

*Vol. (µL)	Niaouli (<i>M. quinquenervia</i>)			Eucalipto (<i>E. globulus</i>)			Orégano (<i>O. vulgare</i>)		
	Parámetros (plántulas)			Parámetros (plántulas)			Parámetros (plántulas)		
	Normales	Anormales	Sin Germinar	Normales	Anormales	Sin Germinar	Normales	Anormales	Sin Germinar
0	86.4 ^a ±5.5	6.0 ^b ±3.6	7.7 ^b ±2.5	87.4 ^a ±2.5	3.7 ^a ±0.5	9.0 ^a ±3.0	89.7 ^a ±3.2	4.4 ^b ±0.5	6.0 ^c ±3.4
100	83.7 ^a ±2.5	6.0 ^b ±2.0	10.3 ^b ±2.5	81.0 ^a ±5.1	7.4 ^a ±4.0	11.7 ^a ±2.0	81.0 ^b ±4.3	6.4 ^b ±3.0	12.7 ^b ±2.0
200	72.4 ^b ±4.1	16.0 ^a ±5.2	11.7 ^b ±3.0	80.4 ^a ±2.5	6.7 ^a ±1.5	13.0 ^a ±1.0	80.7 ^b ±1.5	6.4 ^b ±1.5	13.0 ^b ±1.0
300	65.4 ^b ±3.5	13.7 ^{ab} ±1.1	21.0 ^a ±4.5	78.7 ^a ±3.5	7.4 ^a ±3.2	14.0 ^a ±2.0	65.7 ^c ±2.0	14.4 ^a ±2.3	20.0 ^a ±1.7

*Volúmenes en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

De los resultados obtenidos en la presente investigación con el uso de los aceites se observa una germinación que va de 65.4 al 83.7%, estos resultados fueron similares de lo reportado por algunos autores como Hall y Harman (1991) y Babu *et al.* (1989), en el cual obtuvieron 75% de germinación de maíz y frijol utilizando aceites de soya y ricino. Cerna Chávez *et al.* (2010), también estudiaron estos aceites en dosis de 1, 2, 5 y 10 $\mu\text{L/L}$ observando que los volúmenes más elevados afectaron la germinación del maíz oscilando entre 64 y 87%.

Los resultados obtenidos por estos autores y los obtenidos en este trabajo indican que elevadas dosis de aceites pueden afectar la germinación de los granos como se observa con el aceite de Niaouli a los 200 y 300 μL y Orégano a los 300 μL . Martínez (2013), reportó una germinación de maíz con el aceite de *Lippia palmeri* del 86.7 al 99% en dosis de 0.2, 0.5 y 1 $\mu\text{L/L}$. Reyes (2011), estudiando los granos de trigo con los aceites de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus camaldulensis* reportó una germinación del 90 al 100% en dosis de 5, 10 y 15 μL , cabe señalar que los tiempos de exposición de 24, 48 y 72 h y dosis utilizadas por estos autores no fueron homologables con la presente investigación, ya que los granos se quedaron más tiempo en tratamiento con los aceites (31 días), esto explicaría el bajo porcentaje de germinación, indicando que a mayores tiempos de exposición el poder germinativo de la semilla se ve afectado.

Según Salas (1985) y González (1995) la disminución de la germinación podría ser consecuencia de la composición de los granos de maíz por presentar mayoritariamente un endospermo harinoso y amiláceo, el cual puede absorber las elevadas dosis de los aceites cuando están en contacto directo con el grano y el embrión, presentando efectos perjudiciales en los procesos fisiológicos y metabólicos comunes.

Porcentaje de Vigor

Según ISTA (2016), las semillas con alto vigor se basan en propiedades del potencial de germinar y emerger nuevas plantas en estados normales con buenos porcentos de germinación, considerando el número y características principales de obtención de las plantas. En el presente estudio fue realizado el ensayo de crecimiento y evaluación de plantas, midiendo la longitud de raíz principal, tallo y planta, número de raíces laterales y peso total de la planta por el periodo determinado de desarrollo (8 días).

En relación con el vigor de las plantas de maíz provenientes de las semillas tratadas con los tres aceites esenciales se observó una baja actividad y desempeño en el crecimiento. Se observa que, las plantas provenientes de las semillas tratadas con el aceite de Orégano y en el control se vieron afectadas en mayor grado cuando fueron comparadas con los aceites de Eucalipto y Niaouli. Es importante mencionar que con relación a la longitud de planta (sumatoria de las longitudes de raíz principal y tallo), estadísticamente los aceites de Niaouli y Eucalipto en todos los volúmenes fueron similares con el control y no se observó diferencias significativas ($p > 0.05$). El control del aceite de Orégano fue estadísticamente diferente siendo de 11.5% cuando comparado con los 200 y 300 μL presentando 16.2 y 17.8% ($p < 0.05$), sin embargo, a los 100 μL fue estadísticamente similar siendo de 15.5% ($p > 0.05$), indicando que hubo un incremento en el vigor.

Con relación al porcentaje de raíces laterales se observó que el aceite de Niaouli en todos los volúmenes presentaron los mejores resultados siendo estadísticamente diferente a los 100 μL presentando 4.1% en comparación con el control que presentó 3.4% ($p < 0.05$) y estadísticamente similar a los 200 y 300 μL presentando 3.6 y 3.8% ($p > 0.05$). El aceite de Eucalipto fue estadísticamente diferente a los 100 y 200 μL presentando 2.8 y 2.8% en comparación con el control que presentó 3.2% ($p < 0.05$) y estadísticamente similar a los 300 μL presentando 3.0% ($p > 0.05$). Algo similar ocurrió con el aceite de Orégano, siendo estadísticamente diferente a los 100 y 200 μL presentando 2.2 y 2.3% en comparación con los 300 μL que presentó 2.9% ($p < 0.05$) y

estadísticamente similar con el control presentando 2.5% ($p>0.05$). Con relación al peso de la planta con cada aceite los valores oscilaron entre 0.9 y 1.2%, estadísticamente no se observa diferencias significativas en ningún de los tratamientos siendo similares con el control ($p>0.05$), (Tablas 11, 12 y 13).

Tabla 11. Porcentaje de vigor de maíz expuesto al aceite esencial de Niaouli.^{1,2}

Niaouli (<i>M. quinquenervia</i>)					
Parámetros					
*Vol. (µL)	Longitud Raíz Principal	Longitud Tallo	Longitud Planta	Raíces Laterales	Peso Planta
0	15.2 ^a ±5.3	10.6 ^b ±1.7	26.4 ^a ±6.5	3.4 ^b ±0.7	1.2 ^a ±0.1
100	14.1 ^a ±4.1	11.2 ^{ab} ±2.1	25.3 ^a ±4.6	4.1 ^a ±0.6	1.2 ^a ±0.3
200	14.3 ^a ±5.0	12.4 ^{ab} ±2.0	26.8 ^a ±5.8	3.6 ^{ab} ±0.7	1.2 ^a ±0.1
300	13.8 ^a ±6.6	13.2 ^a ±2.7	27.1 ^a ±7.9	3.8 ^{ab} ±0.5	1.2 ^a ±0.2

*Volúmenes en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p<0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Tabla 12. Porcentaje de vigor de maíz expuesto al aceite esencial de Eucalipto.^{1,2}

Eucalipto (<i>E. globulus</i>)					
Parámetros					
*Vol. (µL)	Longitud Raíz Principal	Longitud Tallo	Longitud Planta	Raíces Laterales	Peso Planta
0	11.8 ^a ±3.9	11.8 ^a ±2.5	23.6 ^a ±5.6	3.2 ^a ±0.4	1.2 ^a ±0.2
100	12.5 ^a ±4.5	11.8 ^a ±1.1	24.4 ^a ±4.7	2.8 ^b ±0.3	1.1 ^a ±0.1
200	12.7 ^a ±6.5	10.2 ^a ±2.6	23.0 ^a ±7.5	2.8 ^b ±0.3	1.1 ^a ±0.3
300	13.1 ^a ±4.5	11.7 ^a ±1.8	24.8 ^a ±4.6	3.0 ^{ab} ±0.0	1.2 ^a ±0.1

*Volúmenes en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p<0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Tabla 13. Porcentaje de vigor de maíz expuesto al aceite esencial de Orégano.^{1,2}

Orégano (<i>O. vulgare</i>)					
*Vol. (µL)	Parámetros				
	Longitud Raíz Principal	Longitud Tallo	Longitud Planta	Raíces Laterales	Peso Planta
0	5.7 ^b ±4.2	5.7 ^b ±1.4	11.5 ^b ±4.3	2.5 ^{ab} ±0.5	0.9 ^a ±0.08
100	9.6 ^a ±3.5	5.8 ^b ±1.9	15.5 ^{ab} ±4.5	2.2 ^b ±0.4	0.9 ^a ±0.1
200	9.4 ^a ±3.5	6.8 ^{ab} ±1.9	16.2 ^a ±4.8	2.3 ^b ±0.6	0.9 ^a ±0.1
300	10.2 ^a ±3.2	7.6 ^a ±1.7	17.8 ^a ±4.1	2.9 ^a ±0.2	0.9 ^a ±0.2

*Volúmenes en µL de aceite esencial que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Según Hernández *et al.* (2006), las plantas provenientes de semillas tratadas con los aceites esenciales pueden ver afectadas hasta un 50% más que plantas no tratadas con ellos. Es importante mencionar que la calidad de la semilla de maíz es un factor importante para agricultores e industria. Según Delouche & Cadwell (1962), el agricultor prefiere adquirir semillas que presentan alto grado de vigor porque de ahí es que si obtiene un crecimiento favorable de sus plantas en el área de cultivo.

Los resultados obtenidos indican que las semillas de maíz utilizadas fueron afectadas directamente en la calidad cuando alcanzaron la madurez fisiológica, observándose un deterioro muy rápido y creciente. Estos resultados fueron similares de lo reportado por algunos autores: Adegbuyi & Burris (1988), midiendo los mismos parámetros de crecimiento del maíz entre 4 y 6 semanas, observaron que a medida que las plantas maduraban, la influencia del vigor de la semilla disminuía. Roberts & Osei-Bonsu (1988), indican en su estudio que el mal vigor puede afectar los rendimientos en la germinación debido a una emergencia reducida de plántulas normales conllevando al mayor número de plántulas anormales y una menor capacidad para emerger nuevas plántulas.

Mantener el vigor de la semilla es muy importante durante el almacenamiento, con un mayor vigor mejor será el potencial para permanecer almacenados en largos tiempos de exposición (Sánchez *et al.*, 1999; Doria, 2010). Según Heydecker (1972), el vigor de las semillas debe promover un rendimiento satisfactorio. El vigor es impulsado por diferentes factores como son los genéticos: cuando se tiene unos genotipos más susceptibles a pérdida del vigor que otros, fisiológicos (prácticas agronómicas mejoradas para lograr un manejo adecuado y desenvolvimiento normal de las semillas), tamaño del grano (con semillas más pequeñas se obtiene plántulas con menos vigor), semillas con fracturas internas o externas (son más susceptibles al ataque de microorganismos como hongos y bacterias bajo condiciones favorables afectando el vigor) (Popinigis, 1977).

Según Rajjou *et al.* (2012) el vigor de una plántula germinada es una aptitud que posee el embrión en el interior de la semilla para proseguir los procesos y actividad metabólica de manera ordenada. Los ARNm que son almacenados en la maduración del embrión y que están presentes en la planta madre son uno de los principales responsables para lograr un bueno proceso germinativo. Igualmente, son importantes la proteostasis y la integridad del ADN sobre el fenotipo. La señalización de hormonas responsables por regular la germinación de las semillas, en la vía del metabolismo de los aminoácidos azufrados, representa una importancia bioquímica y molecular en la semilla cuando inicia su desenvolvimiento para lograr la germinación y el vigor (Maldonado, 2008).

Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales

En la (Figura 21), se presenta la curva de calibración del ácido gálico utilizada como patrón de referencia para la determinación de los compuestos fenólicos (0-1 mg/mL).

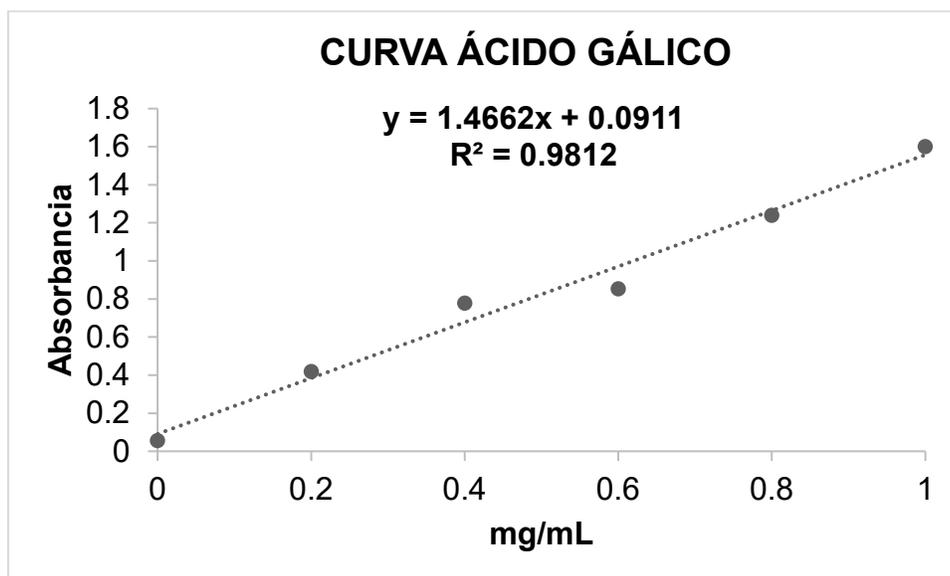


Figura 21. Curva de calibración del ácido gálico para la cuantificación de los fenoles totales por Folin-Ciocalteu.

Como se observa en la Tabla 14, en cada uno de los tratamientos el contenido de fenoles totales fue expresado como miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mgEAG/g) de maíz y aceites esenciales para los extractos. Se observó que el contenido de fenoles totales en el tratamiento del aceite de Orégano fue mayor que las demás muestras analizadas siendo de 94.68 mgEAG/g, incluso con los aceites de Niaouli y Eucalipto que presentaron 1.68 y 2.72 mgEAG/g respectivamente observándose una diferencia significativa ($p < 0.05$).

La mayoría de los extractos de maíz obtenidos de las muestras de harina tratadas con los aceites en los volúmenes de 100, 200 y 300 μL , no promovieron cambios significativos en la liberación de compuestos fenólicos en comparación con la harina sin aceite (control) y con los aceites de Niaouli y Eucalipto ($p < 0.05$). Se observó un mayor contenido de fenoles totales en los tratamientos de Maíz + Orégano aún que en

la muestra proveniente de los 100 μL se puede considerar estadísticamente similar con las demás muestras mencionadas anteriormente con 8.07 mgEAG/g, teniendo una relación estadística con la muestra proveniente de los 200 μL con 12.53 mgEAG/g, siendo esta también relacionada con la muestra proveniente de los 300 μL con 16.09 mgEAG/g ($p < 0.05$).

Tabla 14. Cuantificación de los fenoles totales de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por Folin-Ciocalteu.^{1,2}

Muestras	*Vol. (μL)	Concentración Inicial Muestra (g/mL)	mgEAG/g
Control (Maíz)	0	0.02	4.15 ^a \pm 0.40
Maíz + Niaouli	100	0.02	0.84 ^a \pm 0.51
Maíz + Niaouli	200	0.02	1.24 ^a \pm 0.51
Maíz + Niaouli	300	0.02	1.40 ^a \pm 0.35
Maíz + Eucalipto	100	0.02	2.23 ^a \pm 0.10
Maíz + Eucalipto	200	0.02	3.57 ^a \pm 0.33
Maíz + Eucalipto	300	0.02	4.60 ^a \pm 1.30
Maíz + Orégano	100	0.02	8.07 ^{ab} \pm 2.32
Maíz + Orégano	200	0.02	12.53 ^{bc} \pm 1.79
Maíz + Orégano	300	0.02	16.09 ^c \pm 2.35
Niaouli	-	0.02	1.68 ^a \pm 0.40
Eucalipto	-	0.02	2.72 ^a \pm 1.40
Orégano	-	0.02	94.68 ^d \pm 1.09

*Volúmenes en μL de aceites esenciales que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

En un estudio realizado por Mex-Alvarez *et al.* (2013) sobre el contenido de fenoles totales en cinco especies de maíz, encontraron que en el maíz morado presentó la mayor cantidad de fenoles totales 1445 mgEAG/100g, la variedad de maíz rojo presentó 354 mgEAG/100g y en las otras variedades amarillo, blanco criollo y blanco híbrido, presentaron cantidades mucho menores de fenoles totales siendo de 3.9, 3.27 y 2.47 mgEAG/g respectivamente. En el presente estudio se observó que el extracto de la muestra de maíz blanco (control) presentó una mayor cantidad de fenoles totales

siendo de 4.15 mgEAG/g, valor superior al reportado en el trabajo anteriormente mencionado.

Los tratamientos con el aceite de Orégano (puro) y en las mezclas con maíz fueron los que más presentaron cantidades de compuestos fenólicos. Según Oliveira *et al.* (2008) esto podría ser atribuido a los terpenos timol y carvacrol que son los componentes fenólicos presentes en mayor cantidad, siendo así, se ha reportado un gran interés en la utilización de estos aceites como antioxidantes. Los resultados concuerdan con otros autores que estudiaron los compuestos fenólicos presentes en extractos de Orégano: Flores-Martínez *et al.* (2016) evaluaron en su estudio el extracto del orégano mexicano (*Lippia graveolens*) aplicando la metodología de superficie de respuesta presentando una gran cantidad de sustancias fenólicas 143.8% y capacidad antioxidante de 90.6%. Camacho *et al.* (2011) evaluaron extractos obtenidos de hojas frescas de Orégano (*O. vulgare*) presentando una mayor concentración de compuestos fenólicos 0.301 mgEAG/mL de extracto.

En la (Figura 22), se presenta la curva de calibración de la quercetina utilizada como patrón de referencia para la determinación de los flavonoides (0-0.1 mg/mL).

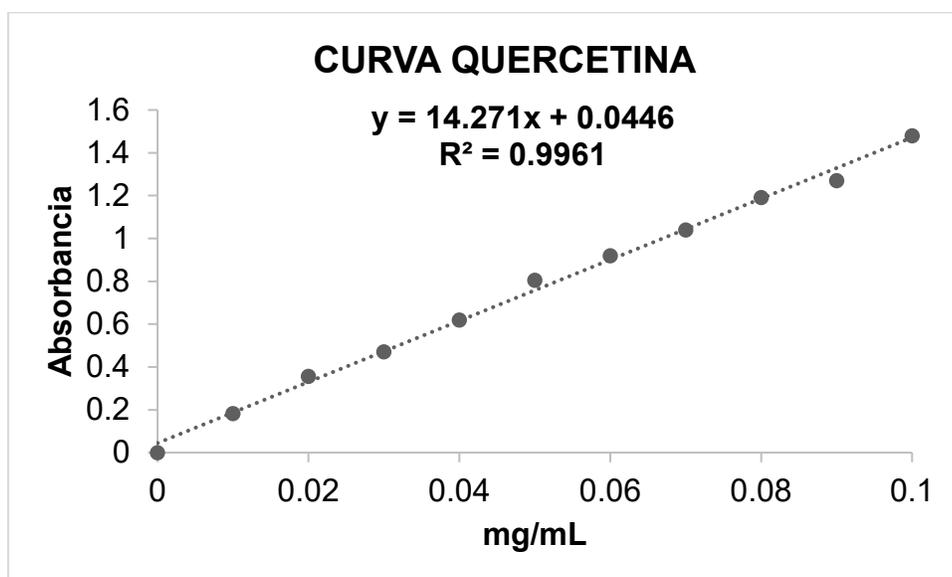


Figura 22. Curva de calibración de la quercetina para la cuantificación de los flavonoides totales por Método Colorimétrico.

Como se observa en la Tabla 15, en cada uno de los tratamientos el contenido de flavonoides totales fue expresado como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de muestra (mgEQ/g) de maíz y aceites esenciales para los extractos. Se observó un bajo contenido de flavonoides totales en todas las muestras analizadas. El tratamiento que presentó un mayor contenido de flavonoides totales fue del aceite de Orégano siendo de 0.27 mgEQ/g observándose una diferencia significativa en comparación con las demás muestras ($p < 0.05$).

En el presente estudio se observó que el extracto de la muestra de maíz blanco (control) presentó una cantidad de flavonoides totales de 0.14 mgEQ/g y que los tratamientos con las mezclas de Maíz + Orégano tratadas en las concentraciones de 100, 200 y 300 μL también fueron los que más presentaron cantidades de flavonoides totales siendo de 0.16, 0.17 y 0.18 mgEQ/g respectivamente ($p < 0.05$).

Tabla 15. Cuantificación de los flavonoides totales de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por Método Colorimétrico.^{1,2}

Muestras	*Vol. (μL)	Concentración Inicial Muestra (g/mL)	mgEQ/g
Control (Maíz)	0	0.02	0.14 ^{bcde} ± 0.00
Maíz + Niaouli	100	0.02	0.05 ^{ab} ± 0.00
Maíz + Niaouli	200	0.02	0.07 ^{abc} ± 0.05
Maíz + Niaouli	300	0.02	0.08 ^{abcd} ± 0.00
Maíz + Eucalipto	100	0.02	0.09 ^{abcde} ± 0.01
Maíz + Eucalipto	200	0.02	0.11 ^{abcde} ± 0.00
Maíz + Eucalipto	300	0.02	0.11 ^{abcde} ± 0.01
Maíz + Orégano	100	0.02	0.16 ^{cde} ± 0.00
Maíz + Orégano	200	0.02	0.17 ^{def} ± 0.00
Maíz + Orégano	300	0.02	0.18 ^{ef} ± 0.03
Niaouli	-	0.02	0.03 ^a ± 0.01
Eucalipto	-	0.02	0.03 ^a ± 0.01
Orégano	-	0.02	0.27 ^f ± 0.05

*Volúmenes en μL de aceites esenciales que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Contenido de Antioxidantes Método de DPPH y ABTS

Como se observa en la Tabla 16, en cada uno de los tratamientos el contenido de antioxidantes por el método de DPPH fue expresado como porcentaje de inhibición, por gramo de maíz y aceites esenciales para los extractos. Se observó que el porcentaje de inhibición del tratamiento con aceite de Orégano y sin aceite (control) fueron mayores que las demás muestras analizadas siendo de 76.31 y 71.92% respectivamente, no se observó diferencias significativas entre ellos ($p>0.05$). Cuando comparados con los aceites de Niaouli y Eucalipto que presentaron 34.98 y 35.71% y con las muestras tratadas con el aceite de Niaouli en las concentraciones de 100, 200 y 300 μL fueron estadísticamente diferentes ($p<0.05$). Sin embargo, obtuvieron una similitud estadística en los tratamientos de Maíz + Eucalipto y Maíz + Orégano en las muestras tratadas con 100, 200 y 300 μL ($p>0.05$).

Tabla 16. Porcentaje de inhibición de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por DPPH.^{1,2}

Muestras	*Vol. (μL)	Concentración Inicial Muestra (g/mL)	Sistema de reacción (mg/mL)	% Inhibición
Control (Maíz)	0	0.02	2.0	71.92 ^b \pm 9.97
Maíz + Niaouli	100	0.02	2.0	40.69 ^a \pm 0.22
Maíz + Niaouli	200	0.02	2.0	40.84 ^a \pm 0.16
Maíz + Niaouli	300	0.02	2.0	40.96 ^a \pm 8.25
Maíz + Eucalipto	100	0.02	2.0	49.02 ^{ab} \pm 1.88
Maíz + Eucalipto	200	0.02	2.0	49.45 ^{ab} \pm 1.03
Maíz + Eucalipto	300	0.02	2.0	49.57 ^{ab} \pm 3.48
Maíz + Orégano	100	0.02	2.0	52.26 ^{ab} \pm 0.66
Maíz + Orégano	200	0.02	2.0	56.59 ^{ab} \pm 4.22
Maíz + Orégano	300	0.02	2.0	60.71 ^{ab} \pm 6.00
Niaouli	-	0.02	2.0	34.98 ^a \pm 0.48
Eucalipto	-	0.02	2.0	35.71 ^a \pm 2.56
Orégano	-	0.02	2.0	76.31 ^b \pm 1.64

*Volúmenes en μL de aceites esenciales que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p<0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

Como se observa en la Tabla 17, en cada uno de los tratamientos el contenido de antioxidantes por el método de ABTS fue expresado como porcentaje de inhibición, por gramo de maíz y aceites esenciales para los extractos. Se observó que el porcentaje de inhibición del tratamiento con aceite de Orégano y sin aceite (control) fueron mayores que las demás muestras analizadas siendo de 93.73 y 92.19% respectivamente, no se observó diferencias significativas entre ellos ($p>0.05$). Cuando comparados con los aceites de Niaouli y Eucalipto que presentaron 35.21 y 36.80% fueron estadísticamente diferentes y también con los tratamientos de Maíz + Niaouli y Maíz + Eucalipto en las muestras tratadas con 100, 200 y 300 μL ($p<0.05$). Sin embargo, obtuvieron una similitud estadística en los tratamientos de Maíz + Orégano en las muestras tratadas con 100, 200 y 300 μL ($p>0.05$).

Tabla 17. Porcentaje de inhibición de los extractos secos de maíz y aceites esenciales por ABTS.^{1,2}

Muestras	*Vol. (μL)	Concentración Inicial Muestra (g/mL)	Sistema de reacción (mg/mL)	% Inhibición
Control (Maíz)	0	0.02	1.5	92.19 ^d \pm 0.20
Maíz + Niaouli	100	0.02	1.5	89.36 ^b \pm 0.60
Maíz + Niaouli	200	0.02	1.5	89.93 ^{bc} \pm 0.14
Maíz + Niaouli	300	0.02	1.5	90.30 ^{bc} \pm 0.14
Maíz + Eucalipto	100	0.02	1.5	90.92 ^{bc} \pm 0.64
Maíz + Eucalipto	200	0.02	1.5	91.17 ^{bc} \pm 0.71
Maíz + Eucalipto	300	0.02	1.5	91.57 ^c \pm 0.30
Maíz + Orégano	100	0.02	1.5	91.65 ^{cd} \pm 0.06
Maíz + Orégano	200	0.02	1.5	91.75 ^{cd} \pm 0.33
Maíz + Orégano	300	0.02	1.5	91.89 ^{cd} \pm 0.24
Niaouli	-	0.02	1.5	35.21 ^a \pm 1.72
Eucalipto	-	0.02	1.5	36.80 ^a \pm 0.99
Orégano	-	0.02	1.5	93.73 ^d \pm 0.39

*Volúmenes en μL de aceites esenciales que fueron expuestos los granos de maíz.

¹Los valores son el promedio de tres réplicas \pm desviación estándar.

²Letras diferentes indican diferencia significativa ($p<0.05$). Análisis de datos obtenidos del paquete estadístico Infostat versión 2018.

En las diferentes familias de plantas como la Lamiaceae el cual pertenece el Orégano se encuentran presentes compuestos bioactivos que son sintetizados del metabolismo secundario como son los antioxidantes. Este efecto antioxidante puede ser relacionado con la presencia de los terpenoides isómeros timol y carvacrol que tienen un grupo hidroxilo (-OH) unido al anillo aromático, presentando un débil carácter ácido, por lo que pueden donar átomos de hidrógeno con un electrón desemparejado (H^\bullet), un radical que se estabiliza por las estructuras de resonancia resultante de la deslocalización de los electrones en la molécula (Lima & Cardoso, 2013; Carvalho, 2017). Según Acevedo *et al.* (2013) el timol representa el 67.51%.

Esto explicaría los resultados obtenidos en la presente investigación considerando que el aceite de Orégano fue el que presentó el mayor % de inhibición en los dos métodos utilizados DPPH y ABTS, así como en los fenoles y flavonoides totales en comparación con los demás tratamientos de Niaouli y Eucalipto.

Los resultados concuerdan con otros autores: Muñoz-Acevedo *et al.* (2009) indica en su estudio aplicando la técnica de ABTS que el potencial inhibitorio de las especies vegetales aromáticas fue más alto para los aceites esenciales que contenían fenoles como el carvacrol y timol. En un estudio realizado por Cervato *et al.* (2000) aplicando la técnica de DPPH con 50 μ g de los extractos acuosos y metanoicos de Orégano (*O. vulgare*) demostraron ser efectivos en la inhibición 75-80%. Porras-Loaiza & López-Malo (2009) indica en su estudio que tres especies de Orégano: *Origanum vulgare*, *Poliomintha longiflora* y *Origanum Majoricum* presentaron actividades antioxidantes.

CONCLUSIONES

En condiciones de laboratorio, los tratamientos de los aceites esenciales de Niaouli y Eucalipto en todos los volúmenes y tiempos de exposición, controlan al 100% la población de insectos adultos de *S. zeamais*. Sin embargo, el aceite esencial de Orégano controló en menor grado causando mortalidades en diferentes porcentajes. Los tres aceites esenciales inhiben la oviposición y emergencia de la progenie F1 y presentan repelencia satisfactoria de *S. zeamais* en todos los tratamientos y tiempos de exposición. Se estimaron las dosis letales media CL₅₀ y máxima CL₉₉ para controlar a *S. zeamais* apenas con el aceite esencial de Orégano que presentó menores porcentajes de mortalidad. Los tres aceites esenciales en volúmenes más elevados afectan el poder germinativo y vigor de las plantas de maíz no presentando buena calidad para siembra. Como agente antioxidante el aceite esencial de Orégano presentó mejores resultados en comparación con los demás tratamientos de Niaouli y Eucalipto.

Con base en los resultados obtenidos, se acepta la hipótesis planteada debido que en los ensayos entomológicos contra *S. zeamais* los aceites esenciales actuaron como insecticidas y repelentes. Sin embargo, se la rechaza en las pruebas de calidad del grano de maíz sobre la germinación y vigor porque los aceites esenciales no presentaron resultados satisfactorios.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con la investigación del efecto insecticida en la mortalidad que tiene el aceite esencial de Orégano sobre *S. zeamais* para confirmar los datos obtenidos.
- Se recomienda realizar una separación de los compuestos presentes en los aceites esenciales como los monoterpenos y utilizarlos para ver cuales poseen el efecto insecticida.
- Se recomienda continuar con la investigación del efecto que poseen los tres aceites esenciales en la calidad del grano de maíz sobre la germinación y vigor utilizando menores volúmenes para no afectar el crecimiento de las plantas.
- Se recomienda continuar con la investigación del efecto de los aceites esenciales en la calidad del grano de maíz en cuanto a los antioxidantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol*, 18(2), 265-267.
- Acevedo, D., Navarro, M., & Monroy, L. (2013). Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*). *Información tecnológica*, 24(4), 43-48.
- Adegbuyi, E., & Burris, J. S. (1988). Field criteria used in determining the vigor of seed corn (*Zea mays* L.) as influenced by drying injury. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 161(3), 171-177.
- Altieri, M. A. (2001). Biotecnología agrícola: mitos, riesgos ambientales y alternativas. *Ecología política*, (21), 15-42.
- Alvarez-Buylla, E., Nelson, A. P., & Trueba, C. C. (Eds.). (2013). *El maíz en peligro ante los transgénicos: un análisis integral sobre el caso de México*. Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades.
- Alvarez, M. R., Melendez, L. A., & Cosío, S. M. R. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste*, 15-17.
- Amaya Rodríguez, L. M., & Portillo Membreño, C. E. (2013). *Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible* (Doctoral dissertation, Universidad de El Salvador).
- Amer, A., & Mehlhorn, H. (2006). Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology research*, 99(4), 478.
- Angelo, P. M., & Jorge, N. (2007). Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, 66(1), 01-09.

- Antunes, L. E. G., & Dionello, R. G. (2017). Eficiência de inseticidas durante o armazenamento de grãos de milho. *Revista Eletrônica Científica da UERGS*, 3(1), 83-94.
- Araújo, S. L. D. (2015). Sanidade de sementes crioulas de milho armazenadas por agricultores e submetidas a tratamentos com extratos vegetais.
- Assis Cardoso Almeida, F., de da Silva Júnior, P. J., Queiroga, V. D. P., Figueiredo Neto, A., Cárdenas Olivier, N., & Rojas, A. B. G. (2014). Eficiência de extractos vegetales como insecticida sobre *Sitophilus zeamais* en granos de maíz almacenados. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 23(2), 57-62.
- Azevedo, F. R., & Moura, M. A. (2013). Interação cultivar de feijão e condições atmosféricas sobre *callosobruchus maculatus* (coleoptera: bruchidae) em grãos armazenados. *HOLOS*, 6, 42-51.
- Babu, T. R., Reddy, V. S., & Hussaini, S. H. (1989). Effect of edible and non-edible oils on the development of the pulse beetle (*Callosobruchus chinensis* L.) and on viability and yield of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Tropical Science*, 29(3), 215-220.
- Badii, M. H., & Abreu, J. L. (2006). Control biológico una forma sustentable de control de plagas (Biological control a sustainable way of pest control). *Daena: International Journal of Good Conscience*, 1(1), 82-89.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1), 191-203.
- Bastida Hernández, L. M., Flores Davila, M. D. A., Cerna Chavez, E. D., Monjaras Barrera, J. I., & Co-Asesor, M. C. (2016). Evaluación de extractos vegetales como una alternativa de control para el picudo de maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky).
- Becheleni, F. R. C., & Campolino, M. L. (2017). Aplicação Biotecnológica da bactéria *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda*. *Revista Brasileira de Ciências da Vida*, 5(1).
- Belzile A-S, Majerus SL, Podeszfiniski C, Guillet G, Durst T, Arnason JT. (2000). Dillapiol Derivatives as Synergists: Structure–Activity Relationship Analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 66:33-40.

- Melaleuca quinquenervia* (Cav) ST Blake. *Revista de Protección Vegetal*, 26(3), 177-186.
- Pinto, C. A. G., Carvalho, M. L. M. D., Andrade, D. B. D., Leite, E. R., & Chalfoun, I. (2015). Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. *Revista Ciência Agronômica*, 46(2), 319-328.
- Pinto, J. J., Silva, G., Figueroa, I., Tapia, M., Urbina, A., Rodríguez, J. C., & Lagunes, A. (2016). Insecticidal activity of powder and essential oil of *Cryptocarya alba* (Molina) Looser against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean journal of agricultural research*, 76(1), 48-54.
- Popinigis, F. (1977). Ministerio de Agricultura, AGIPLAN. Fisiología de semente. Brasil 1. p. 289.
- Porrás-Loaiza, A. P., & López-Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121-134.
- Priestley, C. M., Williamson, E. M., Wafford, K. A., & Sattelle, D. B. (2003). Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British journal of pharmacology*, 140(8), 1363-1372.
- Puerto Rodríguez, A. M., del., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Rajjou, L., Duval, M., Gallardo, K., Catusse, J., Bally, J., Job, C., & Job, D. (2012). Seed germination and vigor. *Annual review of plant biology*, 63, 507-533.
- Ramanoelina, P. A., Bianchini, J. P., & Gaydou, E. M. (2008). Main industrial niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) oil chemotype productions from Madagascar. *Journal of Essential Oil Research*, 20(3), 261-266.
- Ramírez Herrera, N. (2012). *Estandarización y control de calidad en procesos de recibo, almacenamiento, distribución y servida de alimentos* (Doctoral dissertation, Corporación Universitaria Lasallista).
- Rappoport, Z. (2004). *The chemistry of phenols*. John Wiley & Sons.

- Rebollar-Domínguez, S., & Tapia-Torres, N. A. (2010). Anatomía de la madera de dos especies de *Eugenia* (Myrtaceae) de Quintana Roo, México. *Madera y bosques*, 16(1), 85-98.
- Reyes Guzmán Ramiro (2011). Uso de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* (Labill) Y *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnhardt) en el control de *Rhizopertha dominica* (Fabricius) y *Tribolium castaneum* (Herbst) en trigo almacenado. Tesis Profesional Universidad de Sonora. PP. 62-63.
- Reyes-Guzmán, R., Borboa-Flores, J., Cinco-Moroyoqui, F. J., Rosas-Burgos, E. C., Osuna-Amarillas, P. S., Wong-Corral, F. J., ... & León-Lara, J. D. (2012). Actividad insecticida de aceites esenciales de dos especies de *Eucalyptus* sobre *Rhizopertha dominica* y su efecto en enzimas digestivas de progenies. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(3), 385-394.
- Reyes, V., Antonio, P., & Nicaragua González, W. A. (2002). *Período de conservación de la semilla de maiz (Zea mays L.) bajo diferentes condiciones de almacenamiento* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria, UNA).
- Roberts, E. H., & Osei-Bonsu, K. (1988). Seed and seedling vigour. In *World crops: Cool season food legumes* (pp. 897-910). Springer, Dordrecht.
- Rodríguez, A. M. (2017). *Compuestos fenólicos como bioplaguicidas de Sitophilus zeamais (Motschulsky)*(Bachelor's thesis).
- Rodríguez, M., Alcaraz, L., & Real, S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. In *CIB* (Vol. 1).
- Román, S., Ojeda-Granados, C., & Panduro, A. (2013). Genética y evolución de la alimentación de la población en México. *Rev Endocrinol Nutr*, 21(1), 42-51.
- Rueda, X. Y., & Mogollón, O. F. C. (2013). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). *Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Basicas*, 10(1).
- Sá Argolo, Poliane (2012). *Gestión integrada de la araña roja Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae): optimización de su control biológico en clementinos* (Doctoral dissertation).

- Salas, J. (1985). Protección de semillas de maíz (*Zea mays*) contra el ataque de *Sitophilus oryzae* a través del uso de aceites vegetales. *Agronomía Tropical*.
- Sánchez, J. A., Calvo, E., Muñoz, B., & Orta, R. (1999). Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. *Cultivos tropicales*, 20(4), 51-56.
- Santos, J. P. (2006). *Controle de pragas durante o armazenamento de milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo.
- Santos, J. P., & Fontes, R. A. (1990). Armazenamento e controle de insetos no milho estocado na propriedade agrícola. *Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em periódica indexado (ALICE)*.
- Santos Sandoval, S., dos & Senô, K. C. A. (2010). Comportamento e controle da *Diatraea saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar. *Nucleus*, 7(1).
- Santos, W. D., dos & Chavaglia, R. F. A. (2017). Importância do controle de armazenagem para conservação e comercialização de grãos. *revista científica do centro de ensino superior*, 155.
- Sepúlveda Jiménez, G., Porta Ducoing, H., & Rocha Sosa, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3).
- Serna-Saldívar, S. O., Gutiérrez-Urbe, J. A., Mora-Rochin, S., & García-Lara, S. (2013). Potencial nutracéutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 295-304.
- SIACON-SAGARPA, Sistema de Información Agroalimentario de Consulta.
- SIAP- SAGARPA, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.
- SigmaPlot version 12.0 from Systat Software, Inc., San Jose California USA.
Disponibile en: www.systatsoftware.com."
- Silva, M. G., DA & Silva, R. C. (2015). Certificação de unidades armazenadoras de grãos no Brasil: sistema de aeração.

- Silva, R. F. B., da Silva, T. T. S., Ferreira, M. G. D. S. D., Melo, D., & Lima, M. G. D. M. (2015). Certificação de unidades armazenadoras de grãos no Brasil: silotermometria.
- Silveira, J. M. F., da & Borges, I. D. C. (2004). Um panorama da biotecnologia agrícola: difusão e impactos sobre o agronegócio.
- Sotomayor, R. (2013). Extracción y cuantificación de antocianinas a partir de los granos de *Zea mays* L.(maíz morado). *Ciencia y Desarrollo*, 16(1), 69-74.
- Suleiman, M., Ibrahim, N. D., & Majeed, Q. (2012). Control of *Sitophilus zeamais* (Motsch)(Coleoptera: Curculionidae) on Sorghum using some plant powders. *Int. J. Agric. For*, 2(1), 53-57.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2007). *Fisiología vegetal* (Vol. 10). Universitat Jaume I.
- Tapondjou, L. A., Adler, C. L. A. C., Bouda, H., & Fontem, D. A. (2002). Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 38(4), 395-402.
- Torres, C., Silva, G., Tapia, M., Rodríguez, J. C., Figueroa, I., Lagunes, A., ... & Ticuch, I. (2014). Insecticidal activity of *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean journal of agricultural research*, 74(4), 421-426.
- Tulli, M. C., Vincini, A. M., Pascucci, J. I., Carmona, D. M., & Baquero, V. G. (2016). Bioecología de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) en cultivos de maíz dulce con diferente manejo de hábitat. *Entomotropica*, 31, 23-35.
- Trampe, J. D. J. L., & Morales, F. Uso de los aceites esenciales en el control de plagas. (2017).
- Usano-Alemany, J., Paúl, J. P., & Díaz, S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Reduca (Biología)*, 7(2).
- USDA, 2016. Panorama Agroalimentario, Maíz, 2016. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200637/Panorama_Agroalimentario_Ma_z_2016.pdf

- USDA, 2019. Bolsa de cereales. Estimaciones de oferta y demanda mundial. Disponible en: <http://www.bolsadecereales.com/ver-informe-usda-63>
- Vallejo-González, R., & Nájera-Rincón, M. B. Actividad insecticida de los aceites esenciales de *Tagetes lucida* cav. y *Cosmos bipinnatus* cav.(asterales: asteracea) sobre *Sitophilus zeamais* Motchulsky (Coleoptera: Curculionidae).
- Vargas Rodríguez, S. E., Quintana Ramos, F. O., Navarro Abad, P., Matamoro Castro, J. M., Cuza Naranjo, M., Borges Miranda, A., ... & Garriga, M. (2015). Efectividad técnica del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* Cav en el control de *Lasioderma serricorne* y afectaciones de las características del tabaco poscosecha. *Revista de Protección Vegetal*, 30, 42-42.
- Velasquez, C. A., & Horacio Dell'Orto, T. (1983). *Distribución e importancia de los insectos que dañan granos y productos almacenados en Chile*. FAO/INIA-Estacion Experimental La Platina.
- Venegas Casanova, E. A. (2012). Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante.
- Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*, 31(2), 126-133.
- Venu P., Holm, D. G., & Jayanty, S. S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT-Food Science and Technology*, 45(2), 161-171.
- Viegas Júnior, C. (2003). Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, 390-400.
- Vivanco, J. M., Cosio, E., Loyola-Vargas, V. M., & Flores, H. E. (2005). Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y ciencia*, 341(2), 68-75.
- Xochitl, L. M. L., & Ramiro, B. J. (2010). Comparación de la Capacidad Antioxidante, Compuestos Fenólicos y Antocianinas Totales de Diferentes Variedades de Maíz (*Zea mays* L). *INVESTIGACIÓN*, 5(2).
- You, C. X., Zhang, W. J., Guo, S. S., Wang, C. F., Yang, K., Liang, J. Y., ... & Deng, Z. W. (2015). Chemical composition of essential oils extracted from six *Murraya*

species and their repellent activity against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*, 76, 681-687.

Zamorano, V., Luis, R., Cerna Chavez, E. D. A., Landeros Flores, J. D. C., Ochoa Fuentes, Y. I. S. A., & Coasesor, M. D. (2014). Evaluación de Tres Insecticidas para el Control del Gorgojo del Maíz *Sitophilus Zeamais* MOTSCHULSKY, Bajo Condiciones de Laboratorio.