

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

Facultad de Ciencias y Humanidades



*Excelencia que trasciende*

**DELVALLE**  
GRUPO EDUCATIVO

**Evaluación de tres concentraciones del aceite esencial de la albahaca, *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), como control del gorgojo de la harina, *Tribolium castaneum* Herbst (Tenebrionidae)**

Trabajo de investigación presentado  
por Ana Cristina Hentze Móvil  
para optar al grado de Licenciado en Biología

Guatemala

2010



**Evaluación de tres concentraciones del aceite  
esencial de la albahaca, *Ocimum basilicum* L.  
(Lamiaceae), como control del gorgojo de la harina,  
*Tribolium castaneum* Herbst (Tenebrionidae)**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**

Facultad de Ciencias y Humanidades

**Evaluación de tres concentraciones del aceite  
esencial de la albahaca, *Ocimum basilicum* L.  
(Lamiaceae), como control del gorgojo de la harina  
*Tribolium castaneum* Herbst (Tenebrionidae)**

Trabajo de investigación presentado  
por Ana Cristina Hentze Móvil  
para optar al grado de Licenciado en Biología

Guatemala

2010



## PREFACIO Y AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo tuvo como duración diez meses aproximadamente, debido, entre otros, a factores climáticos, que provocaron retrasos. Se seleccionó el aceite esencial de albahaca, *Ocimum basilicum* L., para desarrollar un método de control de plagas más racional y sostenible ecológicamente, y para ello se utilizaron poblaciones del gorgojo castaño de la harina, *Tribolium castaneum* Herbst. Finalmente deseo dejar constancia de mis más profundos agradecimientos a:

Dios, por darme la oportunidad de estar donde estoy y por darme las herramientas necesarias para salir adelante.

Mis papás, por darme la oportunidad de educación y por apoyarme y exigirme a dar lo mejor de mí.

Mi familia, por apoyarme en todo momento.

Ing. Luis Andrés Arévalo, por no perder las esperanzas en mí (aún cuando tuvimos que cambiar toda la tesis), por resolver mis dudas y compartir sus conocimientos en la elaboración de este trabajo.

Lic. Margarita Palmieri, por guiarme en cómo se debe redactar un trabajo de graduación y por la paciencia con las entregas de las correcciones.

A todos y todas las personas que estuvieron en todo momento ayudándome y apoyándome, y haciendo que el camino se volviese más fácil, gracias por estar siempre a mi lado.

# ÍNDICE

	Página
PREFACIO.....	v
ÍNDICE.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
A. Granos almacenados.....	4
1. Importancia de los granos almacenados.....	5
2. Plagas de los granos almacenados.....	6
B. Aprovigra.....	9
C. Insectos en granos almacenados.....	9
1. Coleópteros.....	10
2. Descripción taxonómica y morfológica.....	10
3. Ciclo de vida.....	12
4. <i>Tribolium castaneum</i> Herbst.....	13
D. Métodos de control de plagas.....	15
1. Control natural.....	15
2. Control biológico.....	16
3. Control tradicional.....	16
4. Control genético.....	17
5. Control químico.....	17
6. Control orgánico.....	18
E. Albahaca.....	20
1. Información botánica de la familia Lamiaceae.....	20
2. Información botánica de la albahaca.....	21

	3. Usos y propiedades medicinales.....	23
	4. Componentes químicos.....	23
	F. Farmaya S. A.....	24
	G. Aceites esenciales en plantas.....	24
	1. Generalidades.....	24
	2. Composición química y clasificación.....	28
	3. Importancia.....	30
	4. Obtención.....	31
	H. Métodos de identificación de compuestos químicos.....	33
	1. Cromatografía de gases.....	33
	2. Espectrometría de masas.....	36
	I. Métodos estadísticos.....	37
	1. Análisis de Varianza (ANOVA) .....	37
	2. Prueba de Tuckey.....	39
III.	JUSTIFICACIÓN.....	40
IV.	OBJETIVOS.....	41
V.	HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	42
	A. Hipótesis nula.....	42
	B. Hipótesis alterna.....	42
VI.	MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	43
	A. MATERIALES.....	43
	1. Material vegetal.....	43
	2. Material biológico.....	43
	B. PROCEDIMIENTO.....	44
	1. Obtención del aceite esencial.....	44
	2. Determinación de perfil químico.....	46
	3. Elaboración de soluciones.....	47
	4. Reproducción de poblaciones de gorgojos.....	47
	5. Aplicación <i>in vitro</i> de las soluciones.....	47

6.	Aplicación de las soluciones a escala mayor.....	48
7.	Análisis estadísticos.....	48
VII.	RESULTADOS.....	49
VIII.	DISCUSIÓN.....	58
IX.	CONCLUSIONES.....	67
X.	RECOMENDACIONES.....	69
XI.	LITERATURA CITADA.....	70
XII.	APÉNDICES.....	75
	A. Principales especies de plagas de granos en la zona tropical y subtropical.....	75
	B. Destilación por arrastre de vapor. ....	76
	C. Albahaca seca de dos variedades de Guatemala.....	77
	D. Diseño experimental micro y macro.....	78
	E. Cromatograma del aceite esencial de albahaca var. Sololá.....	79
	F. Cromatograma del aceite esencial de albahaca var. S. Rosa.....	83
	G. Espectro de masas del linalool en albahaca var. S. Rosa.....	86
	H. Espectro de masas del linalool en albahaca var. Sololá.....	87

## LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Clasificación taxonómica de los coleópteros .....	11
2. Taxonomía de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst .....	14
3. Taxonomía de <i>Ocimum basilicum</i> L. ....	22
4. Propiedades generales de los aceites esenciales.....	23
5. Biosíntesis del difosfato de isopentenilo.....	26
6. Clasificación de los componentes de los aceites esenciales.....	29
7. Lista de industrias que utilizan aceites esenciales.....	31
8. Características de las diferentes clases de cromatografía.....	33
9. Perfil químico del aceite esencial de albahaca.....	50
10. Mortalidad de gorgojos bajo siete tratamientos.....	51
11. Análisis de varianza de las pruebas realizadas a nivel <i>in vitro</i> .....	53
12. Prueba de Tukey de las pruebas realizadas a nivel <i>in vitro</i> .....	54
13. Mortalidad de gorgojos a escala mayor.....	55

14. Análisis de varianza de las pruebas realizadas a mayor escala.....	56
15. Prueba de Tukey de las pruebas realizadas a mayor escala.....	57

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ciclo de vida de los coleópteros.....	13
2. Larva y adulto de <i>Tribolium castaneum</i> Herbst .....	14
3. Inflorescencias de <i>Ocimum basilicum</i> L.....	22
4. Estructuras representativas del aceite esencial de la albahaca.....	24
5. Ruta biosintética de los aceites esenciales.....	27
6. Sistema de destilación simple Kit Corning.....	45
7. Sistema de destilación por arrastre con vapor de agua Kit Corning.....	45
8. Mortalidad de gorgojos bajo siete tratamientos.....	52
9. Mortalidad de gorgojos a escala mayor.....	55

## RESUMEN

Uno de los principales problemas que preocupan al mundo es la erradicación de plagas que afectan los productos alimenticios, lo cual a su vez puede afectar directa o indirectamente al ser humano. El mal manejo de las plagas ha ocasionado pérdidas económicas y deterioro al medio ambiente. El uso de pesticidas sintéticos es nocivo para el entorno ecológico por su toxicidad. El campo de la ecología química ha reconocido que los metabolitos secundarios de las plantas juegan un papel importante en las interacciones ecológicas, entre ellas el de defensa. Su estructura química deriva en un amplio rango de componentes con efectos tóxicos, disuasorios e inhibitorios, lo cual ha permitido su uso como fuente de compuestos de acción insecticida contra un significativo número de plagas.

La albahaca común, *Ocimum basilicum* L., es nativa de Asia tropical, naturalizada y cultivada en todas las regiones tropicales. En Guatemala se encuentra en huertos familiares en muchas partes del país. Se caracteriza por su aroma penetrante y su uso en la industria alimenticia.

*Tribolium castaneum* Herbst, mejor conocido como gorgojo castaño de la harina pertenece a los coleópteros, y afecta principalmente granos de cereales. Es considerado plaga secundaria de granos limpios y secos y primaria de harina de trigo (FAO 1983). En Guatemala, ha causado pérdidas millonarias en el campo de los granos almacenados. Para su control se han utilizado insecticidas sintéticos (como bromuro de metilo y otros), pero su toxicidad plantea peligros de contaminación o intoxicación tanto para las personas que realizan el control como para los consumidores.

En este estudio se extrajo aceite esencial de dos variedades de albahaca, colectadas en dos localidades de Guatemala, Sololá y Santa Rosa. Se determinó el perfil químico del aceite de *Ocimum basilicum* L., para luego evaluar su actividad

insecticida en adultos del gorgojo castaño de la harina *Tribolium castaneum* Herbst a nivel *in vitro* y en contenedores de grano.

El material vegetal utilizado fue proporcionado por FARMAYA S. A., Laboratorio de productos fitofarmacéuticos. Las poblaciones de gorgojos fueron colectadas en la planta almacenadora de granos ubicada en el puerto de San José, Arovigra, y se criaron en sacos de harina hasta obtener adultos a edad estandarizada.

La extracción del aceite esencial se realizó por destilación por arrastre con vapor de agua, durante una hora aproximadamente, en un equipo de destilación por reflujo descrito por Clevenger. Se utilizaron las sumidades florales de la albahaca y agua. De sus propiedades organolépticas se puede concluir que tiene una apariencia amarillo pálido, un aroma similar al del anís.

La composición química de los aceites se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM). Los compuestos se identificaron por comparación de los espectros de masas de cada componente con los estándares de las librerías que se encuentran dentro de un programa de software. El análisis químico permitió detectar una gran cantidad de constituyentes de forma cualitativa, identificando el linalool, estragol, eugenol, alcanfor, borneol, eucaliptol, entre otros.

Para la evaluación de la actividad insecticida se realizaron seis soluciones a tres diferentes concentraciones a partir del aceite esencial (se realizaron tres soluciones por cada una de las variedades de albahaca). Las concentraciones fueron 10%, 5% y 2.5%. Para la evaluación *in vitro* se tomaron 10 individuos de los sacos de harina y se colocaron en cajas petri (cinco repeticiones por solución más cinco repeticiones de un tratamiento testigo, n=350 gorgojos). Se realizó una única aplicación de 0.2 ml de la solución a cada caja petri. Se tomaron registros de la muerte de los gorgojos a las 24, 48, 72 horas y a la semana. Los datos obtenidos fueron

evaluados con un ANOVA univariado de tres vías y una Prueba de Tukey, que indicaron que habían diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo. Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna. De igual manera se determinó que las soluciones SS 5% y SR 5% (Sololá 5% y Santa Rosa 5%, respectivamente) presentan una mayor actividad insecticida que las demás soluciones.

Se escogieron ambas soluciones para la aplicación a mayor escala. En recipientes de plástico se colocó 1 kg de trigo limpio y 20 gorgojos (cinco repeticiones por solución más cinco repeticiones de un tratamiento testigo, n=300 gorgojos). Se realizó una aplicación previa a las paredes de los botes con ambas soluciones (SS 5% y SR 5%). El grano, junto con los gorgojos fue colocado a lo largo del piso y se aplicó 5 ml de las soluciones y se volvió a colocar el grano ya tratado dentro de los recipientes. Se tomaron registros de la muerte de los gorgojos a las 24, 48, 72 horas y a la semana. De nuevo se corrió un ANOVA univariado de tres vías y una Prueba de Tukey. Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento testigo y ambos tratamientos. La prueba de Tukey determinó que la solución A 5%, que corresponde a la albahaca var. Sololá, presenta actividad insecticida mayor que la solución B 5%, que corresponde a la albahaca var. Santa Rosa. El aceite esencial var. Sololá alcanzó un x% de mortalidad mientras que el aceite esencial var. Santa Rosa obtuvo un x% de mortalidad.

El aceite esencial de la albahaca, *Ocimum basilicum* L., sí presenta actividad insecticida en el gorgojo castaño de la harina, *Tribolium castaneum* Herbst, por lo que se rechaza la hipótesis nula, aceptando la hipótesis alterna. No se sabe si la actividad biológica de la albahaca guarda relación directa con el perfil químico de sus aceites esenciales, por lo que se recomienda, hacer un estudio directamente químico para evaluar dicha relación.

**Palabras clave:** Albahaca (*Ocimum basilicum* L.), gorgojo castaño de la harina (*Tribolium castaneum* Herbst), aceites esenciales, plagas, cromatografía de gases.

## ABSTRACT

One of the main problems worldwide is the eradication of crop destroying plagues, affecting human beings on a daily basis. Plagues have caused considerable economic losses and environmental damage. Synthetic pesticides and its massive use against them are harmful due to its toxicity. Science fields like ecologic chemistry have found and recognized that plant's secondary metabolites play a crucial role within natural interactions, such as defense. Their chemical structure has a large amount of components each with its own toxic effects, either way dissuasive or inhibiting. These components have enable plants to be used as source of insecticide agents against a large number of pathogens.

Common basil, *Ocimum basilicum* L., is a tropical Asia native plant, and it's cultivated throughout tropical regions. In Guatemala, basil can be found within homegrown gardens. It's known for its penetrating aroma and wide use in the food industry.

*Tribolium castaneum* Herbst, better known as "flour's brown weevil", belongs to the coleopteran plague group and affects mainly wheat grains. It's considered a secondary plague over dry and clean grains, and a primary within wheat flour (FAO 1983). In Guatemala, this particular living creature has caused millionaire losses in grain storages and as an attempt to control brown weevils, synthetic pesticides such as (methyl bromure) have been used, but due to its toxicity, it does much more damage than the benefits being ripped.

In this particular study, essential oil was extracted from two different varieties of basil, each one of them collected in a different region within Guatemala, Sololá and Santa Rosa. The chemical profile of *Ocimum basilicum* L. oil was determined for later

evaluation of its insecticide properties on adult brown weevils *Tribolium castaneum* Herbst, at major and in vitro scale.

Plant material for extraction was provided by FARMAYA S.A., phytopharmaceutic laboratories. Brown weevil populations were collected in Arovigra, and were cultivated in flour sacks until adults were grown on to a standardized age.

The essential oil extraction was made through water vapor drag distillation, approximately during one hour, using distillation reflux equipment setup as described by Clevenger. Water and considerable amounts of basil were as well needed. Out of its organoleptic properties, it can be concluded, that the oil has a pale yellow appearance and a smell similar to that of the known aniseed.

Chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography in addition to a mass spectrometry (CG/EM). The compounds were identified by comparing mass spectra of each agent with library standards that can be found within software program. Chemical analysis detected a considerable amount of constituents in a qualitative form, identifying linalool, estragol, eugenol, borneol and eucalyptol among others.

To evaluate the insecticide activity, six different solutions each one containing a different essential oil concentration were made (three solutions were prepared for each basil variety).

The concentrations chosen were 10%, 5%, and 2.5%. For the in vitro evaluation, 10 weevils were taken from the flour sacks, and were put into Petri dishes (five repetitions for each solution done, plus other five more of a witness treatment, thus n=350 weevils). A unique application of 0.2 ml solution was done to each Petri dish. Records were taken upon weevil's death at 24, 48, 72 hours and a week later.

The data gathered was analyzed through a three way univariate ANOVA and a Tukey test, which indicated that significant differences between treatments and control. Null hypothesis is rejected, hence accepting alternate. Same way it was determined that solutions A 5% and B 5% (Solola5 % and Santa Rosa 5%), present a greater insecticide activity than the others.

Both of these solutions were taken into consideration for major scale application. Within plastic containers 1 kg of clean wheat was settled, and 20 weevils (five repetitions per solution of a control treatment, thus n=300). A previous application to the container walls was done with each one of the solutions (A5% and 5%). Weevils and grains were settled among the floor and 5 ml of the solution was sprayed on them. Later the treated grain was then put back in the container. Death records of weevil were taken at 24, 48, 72 hours and a week later. Once again, data was analyzed with a three way univariate ANOVA and a Tukey test. Tukey test revealed that solution A5% which correspond to basil variation from Sololá, presents greater insecticide activity than solution B5% basil variation from Santa Rosa.

The essential oil basil presents insecticide activity among brown flour weevils, *Tribolium castaneum* Herbst, thus rejecting null hypothesis and accepting altern. It is unknown if biological activity of basil has a direct connection with the chemical profile of its essential oil, for that its recommended the conduction of a scientific study merely chemical to evaluate the relation.

**Palabras clave:** Basil (*Ocimum basilicum* L.), Red flour beetle (*Tribolium castaneum* Herbst), Essential oils, pests, gas chromatography.

## I. INTRODUCCIÓN

En muchos centros de investigación se han venido estudiando las propiedades biológicas de plantas medicinales y aromáticas. El potencial que presentan muchas plantas con aplicaciones en el campo de la medicina, de farmacia, a nivel de industria e incluso en el campo agrícola, le ha abierto las puertas al mundo de la botánica aplicada. Las propiedades antimicrobiales, antifúngicas e insecticidas de los aceites esenciales han sido establecidas ya contra un amplio espectro de organismos como hongos, bacterias e insectos. Los aceites esenciales son los constituyentes odoríferos o esencias de una planta, son productos volátiles, aromáticos, constituidos por una mezcla compleja de varias sustancias generadas por diversas rutas biosintéticas (Flores 1999). Sustancias como flavonoides, terpenoides, carotenoides, cumarinas, entre otras, son las responsables de las propiedades de las plantas con actividad biológica. Los químicos naturales presentes en cortezas, tallos, hojas y flores se han utilizado ampliamente en aromaterapia y en medicina desde tiempos ancestrales, lo que sugiere que las plantas no sólo pueden ser utilizadas como aromatizantes o condimentos, sino también pueden tener un impacto positivo sobre la salud. Por la complejidad de sus constituyentes pueden incluso jugar un papel importante en el desarrollo económico de un país. En el campo de la agricultura, los aceites afectan el comportamiento de respuesta de las plagas y actúan como insecticidas o como repelentes de insectos que son dañinos para el ser humano, animales o para el propio cultivo. Los aceites esenciales han sido utilizados exitosamente contra un gran número de microorganismos y plagas de productos almacenados. Se ha encontrado que los aceites volátiles son más efectivos que otros pesticidas de origen químico, por lo que en los últimos años se han ido desarrollando pesticidas orgánicos o pesticidas derivados de plantas.

Durante siglos, los agricultores tradicionales han mantenido sistemas agrícolas complejos adaptados a condiciones locales. Entre los siglos XIX y XX se dieron dos acontecimientos que cambiaron el mundo de la agricultura, la Revolución Industrial y la Revolución Verde, dando origen a una nueva Era, una Era de industrialización. En el ámbito de la agricultura, ambos procesos impulsaron un importante incremento de

la producción agrícola, la cual se basó en el empleo de nuevas técnicas de producción, el impulso intensivo de monocultivos y en la aplicación masiva de fertilizantes, pesticidas y herbicidas. Las perspectivas eran optimistas para la erradicación del hambre y la desnutrición en países en vías de desarrollo. Sin embargo, surgieron aspectos negativos con los que no se contaba. Se creó una dependencia tanto tecnológica como química, provocando que la industria agroquímica y específicamente el uso de pesticidas eclipsaran las técnicas utilizadas anteriormente a la revolución industrial.

En los últimos 60 años, los pesticidas químicos convencionales han sido el método predominante para el control de plagas a nivel mundial, especialmente en América Latina, incluyendo Guatemala. Los pesticidas químicos matan, repelen, regulan o interrumpen los ciclos biológicos de las plagas y le permiten a la planta o cultivo desarrollarse sin mayor problema. Eso sin contar su precio relativamente bajo y altamente efectivo en comparación con otros métodos de control. Sin embargo, a través del tiempo, se han reconocido ciertas desventajas en contra de dichas sustancias. El reconocimiento de problemas económicos, agroecológicos, sociales y del ambiente ligados al uso excesivo de plaguicidas, han llevado a científicos a buscar nuevas alternativas para erradicar los efectos secundarios que han provocado los pesticidas químicos. La utilización indiscriminada de plaguicidas en todo el mundo ha dado lugar a la aparición de líneas de insectos y hongos fitopatógenos resistentes a los principales productos químicos, causando graves consecuencias para la economía, la salud humana y el ambiente, entre otros.

Dada esta situación, se han realizado considerables esfuerzos para desarrollar bioplaguicidas con mínimos efectos secundarios para la salud humana y el ambiente. En los últimos años se ha realizado una búsqueda del equilibrio entre el ambiente, la producción agrícola y el hombre. Muchos científicos regresaron a los métodos antiguos de control de plagas utilizados por diversas culturas. El uso de extractos vegetales para el control de plagas agrícolas empezó a causar gran interés entre investigadores.

En el mundo existen cientos de plantas a las cuales se les atribuyen efectos acaricidas, bactericidas, herbicidas, insecticidas, nematocidas y rodenticidas, entre

otros. En un principio, se empezaron a utilizar insecticidas derivados de plantas como la nicotina del tabaco (*Nicotiana tabacum*), la rotenona de las raíces del timbo (*Derris* sp) y el piretroide de las flores de *Chrysanthemum cinerariifolium* (Carpinella 2006), entre otros. Sin embargo estos plaguicidas naturales siguieron siendo desplazados por la llegada de nuevos insecticidas sintéticos, más potentes todavía, debido a que eran más fáciles de producir a escala industrial, a un costo más bajo.

Hoy en día, se busca un nuevo escenario en el cual se puedan controlar las plagas sin dañar a otros organismos, ni mucho menos al ecosistema en que habitamos. Los bioinsecticidas son productos no convencionales que pueden ser obtenidos del principio activo de plantas o animales, ya sea para aplicarlos directamente o para sintetizarlos y crear insecticidas inocuos para el medio ambiente.

La albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es un cultivo nativo de Asia, naturalizado en el resto del mundo. Es una planta aromática y medicinal que llega a alcanzar de 30 a 50 cm de altura. Es una planta anual perteneciente a la familia de las labiadas. Se encuentra en forma silvestre en regiones tropicales y subtropicales y se cultiva principalmente como hierba culinaria. Muchos estudios se han realizado con la albahaca, pues posee flores hermafroditas con abundante polinización cruzada, lo que produce una elevada cantidad de subespecies, variedades, formas y aceites esenciales con diferentes perfiles de composición química (Murillo *et al.* año no disponible). Se ha encontrado en la literatura, que el aceite esencial, además de poseer propiedades medicinales, posee también propiedades insecticidas, antimicrobiales y antifúngicas.

Este trabajo de investigación busca aprovechar las propiedades insecticidas de la albahaca para el control del gorgojo castaño de la harina (*Tribolium castaneum* Herbst). *T. castaneum* se ha convertido en una plaga de granos almacenados, cuyas infestaciones causan millones de dólares en pérdidas anuales y se caracteriza por tener una propensión a desarrollar resistencia a los insecticidas. Del aceite esencial de la albahaca proveniente de dos regiones (Sololá y Santa Rosa) se evaluó la actividad insecticida sobre *T. castaneum*. Asimismo, se determinó el perfil químico de ambas variedades cultivadas bajo diferentes condiciones climáticas y suelo por medio de la técnica de cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas.

## II. ANTECEDENTES

A continuación se presentan temas relacionados con la planta a la cual se hizo las extracciones, el lugar donde se encuentra, los organismos a los cuales se les aplicará el aceite esencial y los métodos estadísticos que se utilizarán. Además se encuentran temas de relevancia acerca del hospedero de la plaga, en este caso los granos almacenados, y se hará una descripción sobre los métodos de control de plagas que se utilizan en la actualidad.

### A. Granos almacenados

Vázquez (2001) define a los granos almacenados como un ecosistema, que consta de una interacción de comunidades bióticas con su entorno abiótico. Los granos pueden ser independientes de la energía solar, dependientes de la energía solar, ecosistemas humanos dependientes de la energía solar y ecosistemas urbano-industriales dependientes del petróleo.

El ecosistema de granos almacenados pertenece al ecosistema humano dependiente de la energía solar y está compuesto por organismos autótrofos, granos y semillas que sirven como fuente de energía y a su vez, como hábitat de muchas especies heterótrofas como son los insectos, ácaros, hongos y bacterias. Existe una gran diversidad de ecosistemas de granos almacenados a nivel mundial. Los sistemas más simples están formados por canastas u otros recipientes con los granos básicos; éstos se encuentran en las zonas rurales de África, India, México y América Central. En este medio también se acostumbra guardar maíz o frijol en sacos estibados en soportes de madera o adobe. También se encuentran silos localizados dentro o fuera de la casa del agricultor (lo cual resulta poco higiénico). En zonas más industrializadas se encuentran estructuras de almacenamiento de barro con capacidad de 1,000 a 1,500 toneladas de grano, como en el caso de Australia y Kenia. En Argentina y México se han creado estructuras de concreto más modernas con capacidad de 5,000 a 10,000 toneladas de almacenamiento de grano. También se consideran ecosistemas de almacenamiento, sistemas de transporte en bodegas, almacenamiento refrigerado, casero o comercial, sistemas de transporte de granos

como barcos, camiones y también filas formadas en el suelo sin protección alguna. Todos estos sistemas de almacenamiento descritos requieren energía para la operación de los equipos de aireación, secado y transporte, al igual que derivados del petróleo como los insecticidas.

Los granos almacenados básicos pueden ser arroz, avena, cebada, centeno, maíz, sorgo y trigo. Los silos o sistemas de almacenamiento deben mantener un ambiente específico para cubrir las necesidades básicas de los granos. Un problema que enfrentan muchos agricultores es la pérdida en los productos alimenticios almacenados, por ejemplo la pérdida de peso, de valor nutritivo, de calidad y pérdida de rendimiento como semilla (Hall 1971). Los factores que afectan el valor nutritivo y el deterioro de los cereales alimenticios son la respiración, la humedad, la conductividad, la fluidez, la presión, la naturaleza física y química de la superficie de los granos, la temperatura, humedad, agentes biológicos y el clima.

La razón por la cual el hombre necesita almacenar muchos de los productos vegetales como los granos que utiliza para su alimentación es porque en la mayoría de los casos su producción es estacional (Dell Orto *et al.* 1985). Para almacenarlos se utilizan diferentes medios y tecnologías, algunas de ellas muy simples y otras más sofisticadas. En muchos casos los principios básicos son los mismos, pero la forma de utilizarlos puede variar de acuerdo a las condiciones ecológicas, culturales y tecnológicas de las diferentes regiones.

1. Importancia de los granos almacenados. El almacenamiento y el mercadeo de cereales alimenticios, si se realizan de un modo eficaz, pueden contribuir a que disminuya el problema del hambre en el mundo. Los granos almacenados son de gran importancia ya que son indispensables para la vida de los seres humanos y animales, pues contienen materias esenciales como carbohidratos, que suministran energía al organismo y pueden convertirse en grasas; grasas, que proporcionan energía y pueden transformarse también en materias grasas del organismo; proteínas, que aportan sustancias necesarias para el crecimiento y la reparación de los tejidos y, asimismo, suministran energía; minerales, que proveen materia para el crecimiento y la reparación, así como para la regulación de los procesos que se desarrollan en el organismo; vitaminas, que se utilizan en los procesos químicos del organismo, son

necesarias en pequeñas cantidades y no son susceptibles de síntesis por el organismo a partir de las materias primas (Hall 1971).

En Guatemala existen cerca de un millón de productores de granos y se producen entre 30 y 35 millones de quintales de granos/año, principalmente maíz y frijol. Además, se importa trigo y maíz amarillo en una proporción similar o mayor, lo que señala la importancia económica y social de los granos así como su almacenamiento y conservación.

2. Plagas de los granos almacenados. Una de las principales preocupaciones que ve Dell Orto (1985), en su estudio “Insectos que dañan granos y productos almacenados” es que durante el almacenamiento de los granos, diversos factores deterioran y destruyen los alimentos que ha tenido que recolectar. De los factores que ocasionan el deterioro de los alimentos, los insectos ocupan un lugar muy importante: el tamaño, la capacidad de reproducirse y su fácil adaptabilidad a los diferentes medios hacen que su control sea muchas veces insatisfactorio<sup>1</sup>. Para fines prácticos, en este estudio se tratarán únicamente plagas referentes a insectos y más detalladamente, insectos que afectan los granos almacenados.

Las especies de insectos que atacan y dañan los granos y sus productos durante el almacenamiento, son considerados como plagas que afectan la economía del agricultor, pues dañan los cultivos, los granos almacenados y en general la salud del hombre y sus animales domésticos. La dispersión de las plagas introducidas por el hombre se ha visto favorecida por los viajes migratorios y de exploración realizados por el hombre, que al transportar sus alimentos también transporta los insectos entre sus provisiones. La contaminación de los alimentos debida a los insectos es una constante fuente de pérdidas y preocupaciones. A menudo, la presencia de fragmentos de insectos en alimentos se interpreta como un indicio de que dichos alimentos fueron procesados bajo condiciones insalubres (Cisneros 1976).

---

<sup>1</sup> En este trabajo de investigación se define plaga como una especie o población biológica que se introduce (natural o introducida por el hombre) en un ecosistema reduciendo y dañando las especies vegetales ahí presentes. En ecosistemas agrícolas se le considera plaga a cualquier población de organismos que reducen la cantidad o calidad de los alimentos, que dañan los productos durante la cosecha, procesamiento, almacenamiento o consumo.

Las especies de plagas se ven limitadas a los lugares accesibles que les proporcionan comida y elementos biológicos y físicos esenciales. Muchos organismos se presentan como plagas durante todo el año, otras sólo en determinadas estaciones. Esto se debe a los factores climáticos, ya que éstos les proveen las condiciones adecuadas para su proliferación. La distribución de las plagas puede cambiar durante una cosecha, ya que ésta las obliga a dirigirse hacia otros cultivos que podrían no estar infestados. Los factores que afectan la distribución y actividad son variables, por tanto la distribución de plagas cambia constantemente. Sin embargo, a menudo las mismas plagas de insectos dañan año con año el mismo cultivo o las mismas regiones.

En bodegas y áreas de almacenamiento, si la humedad y temperatura le son favorables a los insectos, tienen a su disposición una gran cantidad de alimento que asegura su reproducción exitosa y sobrevivencia. Dell Orto (1985) demostró que su actividad metabólica incrementa la humedad y temperatura del medio en que se desarrollan, creando las condiciones para la proliferación de los hongos. El grano queda destruido, ocasionando graves pérdidas económicas.

De los insectos que atacan los granos se han clasificado aproximadamente 250 especies (Hall 1971). Con base al daño que ocasionan, los insectos se han agrupado en especies primarias, que aunque son pocas, son capaces de dañar granos enteros y tienen gran importancia económica. Las especies secundarias atacan granos partidos o dañados por las primarias y se multiplican con facilidad en los productos obtenidos de la molienda de los granos. Por último, las especies terciarias se multiplican en granos y productos en avanzado estado de deterioración causado por otros insectos o por microorganismos. Un aspecto importante es el producto que atacan. Hay especies que son polífagas y se alimentan y multiplican en una gran variedad de productos; otras, son específicas y sólo se reproducen bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura; algunas no sobreviven en granos secos, y otras lo hacen solamente si las temperaturas son relativamente altas.

Los insectos tienen hábitos propios. La oviposición, alimentación, migración y respuesta al medio es diferente para cada especie. A continuación se presentan algunas especies de insectos que tienen un fuerte impacto negativo en los granos de

almacenaje en Guatemala.

- El barrenillo de los granos (*Rhyzopertha dominica* F.) es una plaga primaria muy peligrosa tanto en estado larvario como en adulto. Ambos estadios perforan el grano dejando como residuo un polvillo. Estos insectos son de color café oscuro a negro. Su cuerpo es cilíndrico y su cabeza es grande y doblada hacia abajo. Sus mandíbulas son capaces de cortar madera. Se puede encontrar en los lugares cálidos de todo el mundo, en muchos tipos de grano y especialmente en los cereales. La larva vive adentro del grano, alimentándose de la harina que dejan los adultos cuando perforan el grano. Terminan su crecimiento dentro del grano. El adulto, al emerger, se alimenta de grano sano y dañado (Lindblad 1976).
- El gorgojo del arroz (*Sitophilus oryzae* L.) es también una plaga primaria. Puede volar de los lugares de almacenamiento del grano a los campos y viceversa, transmitiendo la infestación de un ciclo agrícola a otro, lo que dificulta su control. Su cuerpo es de color café rojizo o negro. La parte anterior de su cabeza es delgada y alargada en forma de pico. Habita en lugares cálidos, especialmente tropicales o subtropicales. Ataca el sorgo, arroz, maíz, cereales y otros productos almacenados. La hembra oviposita dentro del grano. La larva crece dentro de la semilla dañando la mayor parte de ésta. El adulto, al eclosionar se alimenta tanto de los granos sanos como dañados (Lindblad 1976).
- La palomilla dorada o palomilla de los graneros (*Sitotroga cerealella*) es también una plaga primaria de color dorado a café claro. Miden de 8 a 10 mm. Ataca casi todos los cereales tanto en el campo como en el almacén. La hembra ovoposita los huevecillos en la superficie del grano y la larva al nacer, emigra al interior de los granos en donde se alimenta. Los adultos no viven mucho tiempo y no se alimentan (Lindblad 1976).
- Por último, el gorgojo castaño de la harina (*Tribolium castaneum* Herbst) es considerado como plaga secundaria, al igual que el gorgojo confuso de la

harina (*Tribolium confusum*) pues no es capaz de perforar y dañar a los granos sanos, pero se multiplica con rapidez una vez que los insectos primarios han perforado los granos. En harinas y productos molidos puede constituir una plaga primaria. Su aspecto es de cuerpo aplanado y de coloración café rojizo brillante. Se distribuye en lugares con clima cálido, en harinas, impurezas y granos rotos. La hembra ovoposita los huevecillos y son depositados en las impurezas del grano y harinas. El adulto se alimenta de harina, residuos y de granos que ya han sido dañados por otros insectos. Los productos infestados por este insecto adquieren un olor y sabor desagradable.

## B. Aprovigra

La Asociación de Productores de Granos (Aprovigra) es una entidad privada que reúne a varios productores de granos de Guatemala. Sus instalaciones de almacenamiento de granos se encuentran ubicadas a cinco kilómetros de Puerto Quetzal. Almacenan principalmente granos de importación, tales como trigo, maíz, arroz y malta.

## C. Insectos en granos almacenados

En zonas tropicales y subtropicales, tanto coleópteros como lepidópteros son los principales insectos parásitos causantes de pérdidas y deterioros en los granos alimenticios almacenados. Como resultado del ataque de los insectos, la calidad del grano empeora y la germinación se reduce. Los insectos no se reproducen bien en un ambiente de temperaturas inferiores a los 10° C y cuya humedad se mantenga por debajo del 8% en los cereales. Los daños ocasionados por los insectos pueden ser directos o indirectos. Los primeros se refiere a cuando ocurre un consumo y destrucción de las reservas del grano, correspondiendo directamente a la pérdida de peso y del valor alimenticio del producto; se trata de daños indirectos cuando en consecuencia del ataque de insectos ocurre un deterioro del producto que afecta la calidad y que corresponde a pérdidas económicas del producto. Considerando el daño físico causado por los insectos, éstos se pueden clasificar en insectos primarios e

insectos secundarios. Los insectos primarios: atacan primero la capa exterior alimentándose posteriormente del contenido interno de los granos. Son considerados los más perjudiciales. Los insectos secundarios: atacan los granos almacenados después de haber roto el tegumento. No inician el ataque antes que los insectos primarios (Hall 1971).

Los factores que favorecen la incidencia de los insectos son la cosecha, humedad, temperatura, calidad del grano y condiciones de almacenamiento. A continuación se presenta una descripción de uno de los grupos principales de plagas, los coleópteros.

1. Coleópteros. A pesar de que los coleópteros contienen especímenes con una enorme diversidad morfológica, suelen reconocerse fácilmente por sus élitros que, por lo general, recubren la mayor parte de su dorso. Los élitros son las alas delanteras transformadas en duros escudos. Los élitros forman una armadura característica de este orden que protege la parte posterior del tórax y el abdomen. Los coleópteros pertenecen al orden Coleoptera, al cual pertenecen aproximadamente 360,000 especies ya descritas. Es el orden que más especies contiene en todo el reino animal (De Iglesias 1995). La distribución de los coleópteros es cosmopolita, ocupan casi cualquier hábitat, desde llanuras, bosques estanques hasta lagunas y montañas. La mayoría son fitófagos aunque también se encuentran coleópteros carnívoros y polífagos. Debido a su amplio rango de hábitos, los escarabajos pueden constituir muchas veces plagas importantes de los cultivos, siendo generalmente las larvas las que causan la mayor parte de los daños agrícolas y forestales (De Iglesias 1995).

2. Descripción taxonómica y morfológica de los coleópteros. Los coleópteros pertenecen al reino Animal y al filo de los artrópodos. Forman parte de la clase Insecta (subclase Pterygota) que se caracteriza por presentar alas en el mesotórax y tres segmentos torácicos. La presencia de las alas va siempre acompañada de esclerotización de los segmentos torácicos, lo cual le da cierta rigidez a los insectos. Debido a que los coleópteros sufren una metamorfosis completa entran dentro del superorden Endopterygota, que incluye a todos los insectos con metabolismo holometábolos. El orden Coleoptera incluye a todos los escarabajos, mariquitas, etc.

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica de los coleópteros.

Reino: Animalia
Filo: Arthropoda
Clase: Insecta
Subclase: Pterygota
Infraclase: Neoptera
Superorden: Endopterygota
Orden: Coleoptera

En el cuadro uno se puede apreciar la clasificación taxonómica de los coleópteros, desde el reino al que pertenecen hasta el orden que los caracteriza. El segundo par de alas (posteriores) son membranosas, están plegadas bajo los élitros y por lo general les sirven para volar. Las larvas y adultos poseen aparato bucal masticador (Dell Orto y Arias 1985). La larva sufre muchas transformaciones o mudas, por lo que muchas veces la larva raramente es similar al adulto. La cabeza de los adultos es generalmente de tipo prognato y consta de una cápsula cefálica en la que se diferencian el vértex, frente, genas, epistoma y labro. Poseen un par de ojos compuestos y no tienen ocelos. El aparato bucal es de tipo masticador. El tórax, por su parte está compuesto por tres segmentos, protórax, mesotórax y metatórax y posee alas y patas. Las patas suelen tener una función de locomoción aunque también en algunas especies están adaptadas para nadar, saltar o incluso excavar. El colorido de los coleópteros varía considerablemente, desde colores oscuros y mates hasta colores vivos como el amarillo, rojo, verde dorado, verde azulado, violeta o el bronce con reflejos metálicos. Las larvas pueden tener el mismo régimen alimenticio que los adultos o una alimentación completamente diferente y presentan forma de gusano con o sin patas (Dell Orto y Arias 1985).

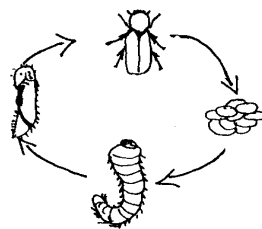
La reproducción de los escarabajos es casi siempre sexual aunque la partenogénesis es excepcional. Las hembras liberan feromonas o emiten sonidos para atraer a los machos. Las larvas obtenidas pueden utilizar casi cualquier sustrato como alimento, como se mencionó en la sección de plagas de granos, muchas larvas se introducen dentro del grano y se alimentan de su contenido energético. Algunas especies de larvas son coprófagas y las larvas eclosionan dentro de las pelotas de excremento. Los coleópteros suelen ocuparse de su prole; en su forma más simple,

estos cuidados se limitan a la elección del emplazamiento donde se pondrán los huevos y posteriormente se desarrollarán las larvas, pero a menudo suelen ser comportamientos más elevados. Algunos coleópteros excavan galerías para sus larvas, otros envuelven los huevos en capullos o enrollan hojas para prepararles un abrigo. Una de las formas más evolucionadas de estos cuidados consiste en enterrar el cadáver de un pequeño vertebrado que, al descomponerse, servirá de alimento a las larvas. Las hembras de muchas especies de insectos, como por ejemplo los gorgojos, perforan los granos de cereales y leguminosas para depositar en ellos sus huevos. Luego de un período de incubación de algunos días, nacen las larvas que inmediatamente comienzan a alimentarse del endosperma y del embrión de las semillas (Hall 1971).

Dentro del orden Coleoptera se encuentran cuatro subórdenes, Archostemata, Myxophaga, Adephaga y Polyphaga; estos cuatro subórdenes albergan alrededor de 166 familias de coleópteros. Aproximadamente dos tercios de las especies de coleópteros conocidos pertenecen a sólo ocho familias: Buprestidae, Carabidae, Cerambycidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Scarabaeidae, Staphylinidae y Tenebrionidae.

### 3. Ciclo de vida

**Figura 1.** Ciclo de vida de los coleópteros



Los coleópteros asociados con alimentos almacenados son conocidos como gorgojos y las familias más importantes son Curculionidae, Bostrychidae, Anobiidae, Ostomatidae, Dermestidae, Tenebrionidae y Cucujidae. Los individuos de estas familias no son especies sociales. El ciclo de vida como se muestra en la figura 1, consta de huevo, larva, pupa y adulto y son estadios bien definidos. Generalmente los huevos son depositados dentro o sobre la superficie de los granos, en el polvo del suelo o en las hendiduras de los almacenes. Después de un período de incubación, que varía de una especie a otra, se originan las larvas. En esta etapa empieza el ataque al

grano almacenado, pues la larva se alimenta de las reservas de alimento contenidas en el grano. La presencia de las larvas muchas veces no es notada, por ello la presencia de larvas representa muchas veces un estado adelantado de infestación. La pupa es la etapa de reposo en que la larva se está transformando en adulto. No se alimenta y permanece inmóvil. La función principal del adulto es la reproducción. Los gorgojos son generalmente de pequeñas dimensiones; sin embargo, su tamaño depende de las sustancias nutritivas y del tamaño del grano infestado. El ciclo de vida puede ser desde menos de un mes hasta un año o más, dependiendo del clima, la especie y del alimento disponible.

4. *Tribolium castaneum* Herbst. El gorgojo castaño de la harina (*Tribolium castaneum* Herbst) pertenece a la familia Tenebrionidae. El cuerpo de los adultos es alargado y ligeramente plano, de color rojizo a castaño, de 3 a 4 mm de longitud. Esta especie se halla extendida por el mundo y es una de las plagas más frecuentes de los granos almacenados (Dell Orto y Arias 1985). Los élitros presentan surcos longitudinales bien marcados y con numerosas puntuaciones. Los tres últimos segmentos de la antena son marcadamente más grandes que los demás. La distancia entre los ojos es otra característica que permite diferenciar a *T. castaneum* con *Tribolium confusum*, especie del mismo género que puede ser confundida con la primera. En *T. castaneum* esta distancia es igual al diámetro de los ojos. El gorgojo castaño de la harina tiene gran capacidad de vuelo. La especie se alimenta de cereales quebrados o que han sido dañados por otros insectos, productos derivados de cereales como harina, salvado, semillas de oleaginosas, nueces, almendras partidas, maní, alimentos suaves o molidos como galletas, cacao, concentrados alimenticios para animales, tortas de oleaginosas, frutas secas y otros productos (Dell Orto y Arias 1985). Hall (1971) encuentra su distribución como cosmopolita. Son capaces de sobrevivir en regiones frías en el interior de molinos, panaderías o lugares con calefacción. *T. castaneum* predomina en las regiones tropicales y subtropicales (Hall 1971).

Las hembras ovipositan hasta 450 huevos entre la harina o residuos de los granos. Los huevecillos están cubiertos con una secreción pegajosa, que permite que se adhieran a las superficies y facilita la infestación. Los huevos incuban después de cinco a 12 días, dando origen a pequeñas larvas delgadas, cilíndricas, blancas, que

llegan a medir 5 mm. El ciclo completo, dependiendo de la temperatura, demora de 6 a 8 semanas y los adultos viven de 12 a 18 meses. El ciclo biológico de *T. castaneum*, a 35-37° C y 70% de humedad relativa, dura aproximadamente 20 días. La temperatura para su desarrollo varía de 20 a 40° C y la humedad relativa de 30 a 90%. A menos de 20°C la larva se desarrolla pero la pupa no es capaz de transformarse en adulto (Hall 1971).

Se les considera plagas secundarias de los cereales porque no son capaces de dañar granos enteros, limpios y secos. Los adultos y las larvas se alimentan de granos de cereales partidos o dañados. Se consideran plagas primarias de las harinas y otros productos de la molienda de los cereales, leguminosas y oleaginosas.

**Cuadro 2.** Taxonomía de *Tribolium castaneum* Herbst

Reino: Animalia
Filo: Arthropoda
Clase: Insecta
Orden: Coleoptera
Familia: Tenebrionidae
Género: <i>Tribolium</i>
Especie: <i>T. castaneum</i> Herbst

**Figura 2.** Larva y adulto de *Tribolium castaneum* Herbst



#### D. Métodos de control de plagas

Durante años se ha reconocido que los gorgojos representan un problema en la agricultura, en especial en los granos almacenados, por tratarse de plagas agrícolas de gran importancia. Es fácil detectar la presencia de insectos adultos en el grano, ya que generalmente viven en el exterior y son más oscuros que el grano. Sin embargo, las larvas y huevecillos son muy difíciles de identificar y, en muchos casos, son los causantes de los daños directos del grano. Es por eso que se deben tomar medidas de control inclusive antes de cosechar el grano y definitivamente antes de almacenarlo.

1. Control natural. Este consiste en principios ecológicos que imitan los mecanismos de equilibrio y estabilidad que usa la naturaleza. Se trata de imitar un paisaje natural en donde conviven diferentes especies de insectos y diversidad de plantas. El principio de este tipo de control es que no se busca eliminar la plaga, sino únicamente bajar sus niveles poblacionales por debajo del umbral del daño económico. Al eliminar una población natural, aparecen nuevos nichos ecológicos, que son ocupados por otros insectos y pueden incluso desaparecer los enemigos naturales que se alimentaban de los primeros. En los granos almacenados se puede controlar la población de insectos por exposición regular al sol. La mayor parte de los parásitos de los productos alimenticios almacenados pueden volar cuando son adultos y levantan el vuelo si se les expone a una luz natural fuerte. Muchos adultos se pondrán en movimiento; sin embargo las fases inmaduras quedan encerradas en el grano, por lo que la exposición regular durante varios meses es indispensable (Hall 1971).

El control natural depende mucho de las condiciones climáticas, pues la intensidad de los ataques por hongos, por ejemplo, va a depender de la humedad relativa y de la temperatura favorable, que permitan el desarrollo de los hongos u otros organismos parásitos. Es por ello que se deben almacenar los granos en ambientes secos y a temperaturas que no permitan la proliferación de insectos y otros microorganismos.

2. Control biológico. Para el control biológico de plagas se han propuesto muchas definiciones y se han originado considerables controversias. Al igual que el control natural, este método pretende dar una protección duradera mediante agentes de control, de acuerdo con los conocimientos del ciclo vital y las relaciones ambientales de la plaga. Dentro de este grupo de control se encuentran los enemigos naturales, organismos dentro de un ecosistema que se alimentan de otros y así contribuyen a controlar las poblaciones.

Debach (1964) define el control biológico como una fase del control natural y es «la acción de parásitos, predadores o patógenos que mantienen la densidad de la población a un promedio más bajo que el que existiría en su ausencia». Cuando las condiciones climáticas son favorables, ciertas poblaciones de organismos llegan a formar plagas, por lo que se necesita de un control mediante enemigos naturales, control genético, cultural o químico natural. Muchas plagas se han logrado controlar con ayuda de otros organismos naturales, por ejemplo, varias orugas han sido controladas con avispas parásitas, o ciertos escarabajos se controlan con ayuda de la bacteria *Bacillus thuringiensis*. El problema del uso de enemigos naturales está en encontrar los organismos que controlen la especie objetivo sin atacar a otras benéficas (Nebel 1999).

3. Control tradicional. Hall (1971) explica que agricultores y comerciantes utilizan el método de ahumado, mezclas con polvos de origen local y de origen vegetal para controlar las plagas en granos. El método de ahumado consiste en colgar espigas, mazorcas, etc., de las vigas de la cabaña y con el calor y humo de la casa hacen que la desecación sea completa y ayude a controlar la infestación de los insectos. En muchas comunidades se cree que ciertas plantas ejercen un efecto repulsivo sobre los insectos y que mezclándolas con el producto alimenticio se consigue alguna defensa contra los patógenos (por ejemplo se agrega chile cobanero al frijol para evitar ataques de insectos).

4. Control genético. Una de las estrategias más importante del control genético yace en implantar en la especie huésped un rasgo incompatible, o la resistencia al ataque de la plaga (debido a la especificidad implicada entre plagas y vegetales). Esta técnica se utiliza para tratar enfermedades vegetales por bacterias, hongos y virus parásitos. La desventaja de este tipo de control es que se requiere una cantidad considerable de dinero y tecnología para poder crear las barreras genéticas en los organismos huéspedes, por lo que no muchos países consideran este método de control (Nebel 1999).

5. Control químico. En general, el control químico de las plagas se refiere a la represión de las poblaciones o prevención de su desarrollo por medio del uso de sustancias químicas. Los compuestos químicos que se utilizan para el control de plagas se conocen como pesticidas. En la lucha contra los insectos parásitos de productos almacenados, se utilizan dos tipos principales de productos químicos: los insecticidas de contacto y los tóxicos respiratorios o fumigantes. Los insecticidas de contacto son venenos que atraviesan la cutícula del insecto y penetran así en los tejidos de su organismo. Los fumigantes son gases o vapores que entran en el cuerpo del insecto por sus vías respiratorias. Los insecticidas de contacto confieren una protección duradera (efecto residual), pero tienden a ser específicos en su acción sobre las especies de insectos. Los fumigantes no ejercen ningún efecto residual, sino que tienen la propiedad de penetrar el grano y de ser absorbidos. Estos compuestos se clasifican dependiendo de su efectividad particular; por ejemplo los pesticidas para el control de ratas se llaman raticidas y para el control de ácaros, acaricidas. Los pesticidas inorgánicos son compuestos cuya base o ingrediente activo es un metal o un elemento inorgánico, su estructura es simple y no contiene carbono. El mecanismo de acción de los pesticidas incluye producir la muerte de la plaga, irritar la fisiología de la plaga, disminuir su capacidad reproductiva o acortar sus ciclos de vida. El control químico afecta también indirectamente a la planta, pues se pueden encontrar alteraciones en la savia de la planta hospedera al inducir cambios en la relación potasio-calcio (Debach 1964). Los plaguicidas inorgánicos han sido desplazados del mercado por ser altamente tóxicos al ser humano. Ejemplos de éstos son el arseniato de calcio, azufre, etc. (Contreras *et al.* 1984). Los pesticidas actuales son los orgánicos sintéticos, grupo de insecticidas que han sido sintetizados de compuestos orgánicos y que poseen en su esqueleto a base de carbono hidrógeno, oxígeno, y otros

compuestos que son los que actúan sobre el insecto. Contreras *et al.* (1984) los divide en insecticidas clorinados u organoclorados, organofosforados, carbamatos, formamidinas y piretroides. Los primeros contienen el radical cloro como su elemento central y actualmente se encuentran retirados del mercado. Los organofosforados se derivan del ácido fosfórico y son los que reemplazaron a los organoclorados. Los carbamatos son productos derivados del ácido carbámico y son similares a los insecticidas organofosforados. Las formamidinas se diferencian de los organofosforados en su mecanismo de acción, al ser de diferente presentación (vapores). Por último se encuentran los piretroides, compuestos lipofílicos fácilmente degradables por microorganismos y no tóxicos para animales de sangre caliente. Los mecanismos principales de estos compuestos son que muchos penetran la cutícula del insecto o son asimilados por ingestión o inhalación; actúan sobre el sistema nervioso central y periférico e inhiben enzimas, entre otros (Cisneros 1976).

Tanto Contreras *et al.* (1984) como Cisneros (1976) señalan que, a pesar de ser compuestos con mecanismos de control rápido y eficaz, los plaguicidas tienen el problema de ser de lenta descomposición en el ambiente, se acumulan en la cadena alimenticia (bioacumulación), son neurotóxicos no sólo para las plagas sino para otros organismos que se encuentran en el ecosistema y el principal problema de todos, generan resistencia en los insectos. El uso de insecticidas de contacto es limitado en productos almacenados, ya que son sustancias químicas que pueden alterar el grano o dejar residuos tóxicos.

En el control químico de insectos, el aumento en la intensidad de estos ataques puede ser consecuencia del mal uso de los pesticidas, ya sea por el uso excesivo o por las malas técnicas de aplicación. Doreste (1984) señala que el control químico tiene la desventaja de eliminar a los competidores y enemigos naturales de los insectos, así como causar modificaciones en su comportamiento.

6. Control orgánico. El control orgánico utiliza insecticidas de origen vegetal o botánicos. Contreras *et al.* (1984) los define como compuestos derivados directamente de especies botánicas, como por ejemplo, la nicotina, piretrinas naturales, rotenona, riania, sabadía y nim. Las moléculas insecticidas provenientes de plantas son de estructura variada y compleja. Su mecanismo de acción depende de la

especie vegetal. Ejemplos de insecticidas orgánicos son la nicotina (*Nicotiana tabacum* L.), la rotenona (proveniente de especies de leguminosas) y las piretrinas (*Chrysanthemum* spp.). La primera es un alcaloide muy tóxico que se extrae del tabaco, es soluble en agua y se utiliza como vapor o en polvo. La rotenona es una sustancia un poco más compleja que se extrae de las raíces de algunas leguminosas, es insoluble en agua y no deja residuos tóxicos. Se utilizan las raíces secas molidas, ya sean solas o mezcladas con aceites agrícolas. Las piretrinas son sustancias extraídas de los crisantemos, no dejan residuos en los cultivos, son de acción rápida y se usan en forma de aerosoles y en polvo.

En la actualidad se está incrementando el estudio de compuestos orgánicos extraídos de plantas para el control de plagas. Además de pulverizar las especies botánicas y hacer infusiones de éstas, existe otra forma con la cual se combaten las plagas: los aceites esenciales.

Los aceites esenciales de plantas han sido utilizados comúnmente en la industria farmacéutica y alimenticia para la elaboración de fragancias y saborizantes. En estudios realizados por Isman (2000) se evidenció que los aceites esenciales han adquirido popularidad por sus propiedades repelentes contra insectos. Los aceites tienen un gran potencial debido a que son productos plaguicidas de bajo impacto para los depredadores naturales. Muchos aceites poseen actividad inhibitoria de la oviposición, actividad reguladora del crecimiento y actividad insecticida para muchos organismos.

Tanto el mecanismo de acción como la potencialidad de los aceites puede variar según la especie, su origen, su composición y el lugar donde se encuentran. Terpenos, alcoholes y aldehídos son algunos de los componentes responsables de la actividad insecticida. Existe un número variado de metabolitos secundarios que se encuentran en la composición de las plantas, a los cuales se les confieren las propiedades insecticidas (Isman 2000).

Las ventajas del control orgánico de plagas son que, por ejemplo, los productos obtenidos de los aceites esenciales son de bajo impacto para los depredadores y para la planta en sí, es decir, no causan daños a los enemigos naturales de la planta, ni dañan

los tejidos vegetales y no daña el ecosistema en que se encuentra. En otras palabras, los aceites esenciales no tienen el problema de la lenta degradación en el ambiente (por ser los aceites un subproducto 100% natural) y, por ende, no se acumulan en la cadena alimenticia de otros organismos. No se sabe con certeza el mecanismo de acción de muchos insecticidas orgánicos de origen vegetal pero no se ha demostrado que tengan efectos neurotóxicos en otros organismos y no se ha demostrado resistencia alguna.

Como todos los tipos de control de plagas, el orgánico también presenta ciertas desventajas. Los costos para la obtención de los aceites esenciales pueden ser relativamente altos en comparación con el método químico. Muchos agricultores no utilizan este método pues prefieren un producto que mate inmediatamente a las plagas. La aplicación de los insecticidas de origen vegetal debe ser a temperatura ambiente, pues generalmente son poco estables a altas temperaturas y a la luz (Cisneros 1976).

Es importante establecer claramente las diferencias entre el control químico y el control orgánico. En esencia, el control químico utiliza plaguicidas sintetizados químicamente ya sean orgánicos (con moléculas de fósforo o cloro en su esqueleto carbonado) o inorgánicos. Estos compuestos se aplican a grandes concentraciones, motivo por el cual son efectivos en períodos cortos, causando también una rápida resistencia en los insectos. Por su parte, el control orgánico utiliza extractos botánicos que se aplican directamente en la planta infestada, ya sea pulverizando la materia vegetal o extrayendo sus aceites esenciales. Por ser compuestos naturales, no alterados por el ser humano, no provocan daños a éste ni a su entorno. Ésta es la principal razón por la cual se realizará este estudio, para poder controlar las poblaciones del gorgojo castaño de la harina *Tribolium castaneum* Herbst sin causar daños significativos en el medio ambiente.

#### E. Albahaca

1. Información botánica de la familia Lamiaceae. Conocidas como lamiáceas o labiadas, son una familia de hierbas perennes, arbustos o raramente árboles pequeños, de hábitat variada. Pertenecen al orden Lamiales. Los tallos son

generalmente cuadrangulares con hojas opuestas, sésiles o pecioladas, enteras o dentadas, raramente lobadas o pinadas, aromáticas y estipuladas. El término labiadas se le atribuye a la peculiar forma de la flor. La inflorescencia es cimosa biaxial o circinada y forma un espiral denso. Las flores son solitarias y se encuentran en la parte axilar de las hojas. Stanley las clasifica como perfectas por ser zigomórficas o actinomorfas (en especial para el caso de la *Mentha* sp.). La flor contiene 5 pétalos fusionados en forma de boca con un labio superior, generalmente bilobulado y más corto y uno inferior, trilobulado. Los 5 sépalos también se encuentran unidos (cáliz gametosépalo). La corola es usualmente bilobulada, de los cuales los dorsales se encuentran unidos para formar un labio erecto, que encierra los estambres. Éstos vienen en pares de 2 o 4 con el par anterior más largo. Las anteras por su parte se encuentran paralelas o divergentes con un estilo ginobásico y bífido en el ápice. El fruto está compuesto generalmente por 4 semillas, distintas o conadas en pares (Stanley 1943).

La familia de las lamiáceas tiene una extensa distribución cosmopolita y comprende unos 200 géneros y alrededor de 3000 a 4000 especies. Entre sus representantes destacan la albahaca, la menta, el orégano, el tomillo y el romero. Una de las características que la componen es el contenido de aceites esenciales en todas las partes de la planta y su uso más común es como condimento.

El género de las lamiáceas más abundante en Guatemala es *Salvia* sp., el cual se encuentra distribuido en su mayoría en el oriente del país. Los géneros presentes en Centroamérica son *Rosmarinus* sp., *Salvia* sp., *Hedeoma* sp., *Cunila* sp., *Scutellaria* sp., *Ocimum* sp., *Catoptheria* sp., *Thymus* sp., *Prunella* sp., *Marsypianthes* sp., *Hyptis* sp., *Teucrium* sp., *Leonurus* sp., *Chaunosloma* sp., *Satureja* sp., *Leonotis* sp., *Hylis* sp., *Marrubium* sp., *Lepechinia* sp., *Stachys* sp., y *Mentha* sp. (Stanley 1943).

2. Información botánica de la albahaca. *Ocimum basilicum* L., comúnmente conocida como albahaca, es nativa de Asia tropical, naturalizada y cultivada en todas las regiones tropicales (Cáceres 2009). Stanley describe esta especie como plantas anuales aromáticas, a veces sufrutescentes, densamente ramificadas. Tienen una altura de 50 cm de alto o menos aunque Cáceres (2009) la describe como una hierba bienal de 1.5 m de alto. El tallo es glabroso con hojas

opuestas, levemente pecioladas, elípticas a ovadas u oblongas, enteras o dentadas y agudas en la base, miden de 2 a 4 cm de largo y de coloración verde y morada. La inflorescencia es pequeña. Los verticilos se encuentran separados en racimos espinosos de 20-25 cm de largo. Las flores son acaulinares, tubulares de color blanco o morado y se diferencian del resto de la familia por tener los 4 estambres y el pistilo apoyados sobre el labio inferior de la corola. El cáliz es largo, ciliado y bilabiado y contiene los frutos de aproximadamente 5 mm de largo, de apertura amplia y miden de 9 a 10 mm de largo. Las semillas son brillantes, café oscuro o negro, oblongas, oleosas y cubiertas de mucílago.

Stanley (1949) y Cáceres (2009) hacen mención que la albahaca es plantada en Guatemala a casi todas las elevaciones, en su mayoría en huertos familiares. Se le conoce como la albahaca común utilizada como condimento y como planta ornamental en los jardines. En la actualidad se le atribuyen propiedades medicinales (Cáceres 2009).

**Cuadro 3.** Taxonomía de *Ocimum basilicum* L.

División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Labiales
Familia: Labiaceae / Labiatae
Género: <i>Ocimum</i>
Especie: <i>O. basilicum</i> L

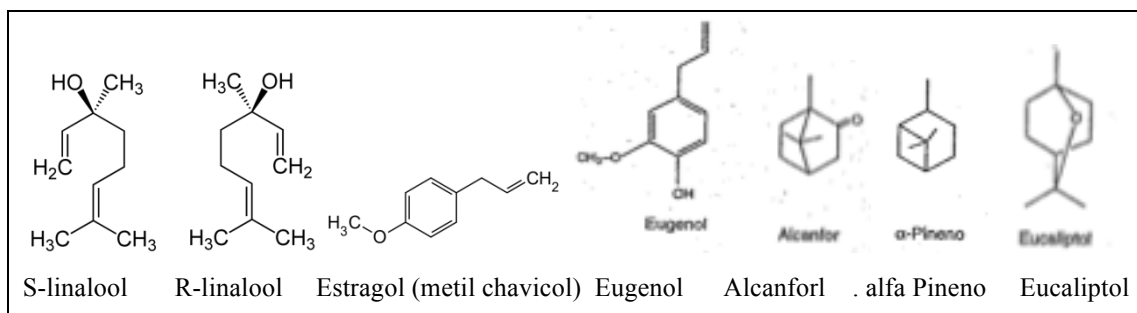
**Figura 3.** Inflorescencias de *Ocimum basilicum* L.



3. Usos y propiedades medicinales. La albahaca ha sido ampliamente utilizada desde la antigüedad con fines culinarios, medicinales y aromáticos (Cáceres 1996). La infusión se usa de forma oral para tratar afecciones digestivas, respiratorias y nerviosas, otalgia, cefalea, vértigo y reumatismo. Tópicamente se usa en cataplasma para tratar afecciones dérmicas, tumores y parásitos. El polvo seco de la hoja se aspira para descongestión nasal. Tiene propiedades antisépticas, aromáticas, astringentes, calmantes, carminativas, colagogas, diuréticas, emenagogas, espasmolíticas, estomáquicas, febrífugas, galactogogas, sudoríficas y vermífugas (Cáceres 1996). Las hojas frescas se utilizan como condimento para sazonar comidas. Es repelente para larvas de insectos y mosquitos (Cáceres 2009).

4. Componentes químicos. Cáceres (2009) encontró que el aceite esencial de la albahaca contiene derivados terpénicos, además de saponinas, taninos y sales de calcio y potasio. Es un líquido con intenso olor alcanforado, especioso y está compuesto de linalool (50%), estragol (5-20%), eugenol (6-20%), alcanfor, cineol, pineno, borneol, canfeno,  $\beta$ -cariofileno, citronelal, estragol, eucaliptol, geraniol, limoneno, linalol, metilcinamato, mirceno, terpineol y ocimeno (ver figura 4). Guenther (1949) encuentra por su parte pequeñas cantidades de terpeno (como d-limoneno), cíñelo, l-linalool, metil chavicol, eugenol, sesquiterpenos no cadinenos. Coincide con Cáceres (2009) en que la mayor parte del aceite esencial lo constituye el linalool (50%), aunque también considera de importancia el metil chavicol (30%).

**Figura 4.** Estructuras representativas del aceite esencial de la albahaca



## F. Farmaya S. A

El laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA, S. A., es una empresa guatemalteca situada en la Ciudad Capital que se dedica a la identificación, cultivo, validación, procesamiento y comercialización de plantas medicinales y productos derivados. Farmaya ofrece productos fitofarmacéuticos como drogas vegetales, infusiones, geles y tinturas orgánicas y utiliza plantas como la achicoria, ajenojo, albahaca, apacín, calahuala, hinojo, jengibre, nance, pericón, ruda, saúco, té de limón, timboco, tomillo y zarzaparrilla, entre otros para la fabricación y manufactura de dichos productos.

## G. Aceites esenciales en plantas

1. Generalidades. Por su definición, los aceites esenciales “son productos volátiles de naturaleza compleja, elaborados por ciertos vegetales a los que confieren un aroma agradable” (Kuklinkski 2000). McMurry (2004) define el aceite esencial como: “El aceite volátil obtenido por destilación por arrastre de vapor de un extracto de una planta”. Los aceites esenciales se caracterizan por ser generalmente líquidos a temperatura ambiente, aunque siempre hay excepciones, como el caso del anís que se solidifica a bajas temperaturas. La mayoría de los aceites son prácticamente transparentes, incoloros o ligeramente coloreados, con la excepción de la manzanilla, que contiene camazuleno de un intenso color azul. Generalmente son menos densos que el agua (el clavo y la canela son la excepción). Debido a sus componentes, los aceites esenciales suelen ser insolubles en agua, aunque los aceites que presentan mayor cantidad de fenoles pueden ser parcialmente hidrosolubles. Por ende, los aceites esenciales son lipófilos y solubles en disolventes orgánicos apolares (hexano, éter etílico, etc.). Poseen índices de refracción elevados y presentan actividad óptica (implica la desviación del plano de la luz polarizada y presentan poder rotatorio). Otra característica importante es que se oxidan con facilidad y se polimerizan dando productos resinosos. En el Cuadro # 4 se presentan las propiedades principales que caracterizan a los aceites esenciales.

**Cuadro 4.** Propiedades generales de los aceites esenciales.

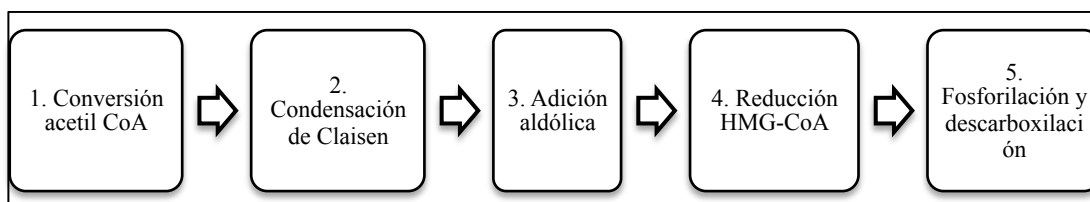
- Líquidos a temperatura ambiente
- Volátiles
- Con olor penetrante
- Incoloros o amarillentos
- Menos densos que el agua
- Insolubles en agua
- Lipófilos
- Solubles en disolventes orgánicos apolares
- Solubles en alcoholes de alta graduación
- Índice de refracción elevado
- Extraíbles por arrastre de vapor de agua o expresión
- Actividad óptica

Fundamentalmente existen dos metabolismos, el primario, que se considera esencial para la vida e incluye a los glúcidos, lípidos y ceras vegetales, aminoácidos y proteínas, ácidos nucleicos y compuestos nitrogenados entre otros; y el secundario, el cual no se considera esencial para la vida y únicamente se produce en ciertos grupos vegetales. Dentro de los compuestos procedentes del metabolismo secundario se encuentran los isoprenoides, derivados fenólicos como ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianinas, taninos y quinonas y los alcaloides (Kuklinski 2000). Los aceites esenciales provienen del grupo de los isoprenoides, por lo que es importante hacer mención a su origen. Los isoprenoides se forman a través de la ruta de la condensación isoprénica, o ruta del ácido mevalónico. Es decir, su precursor es el ácido mevalónico. En esta ruta se incorporan unidades de C<sub>5</sub> hasta formar isoprenoides numerosos y de estructura diversa. Pueden formar parte de otras estructuras, como en el caso de las saponinas, o mezclas complejas como en el caso de los aceites esenciales (McMurry 2004).

La ruta del ácido mevalónico opera en el citosol y en el retículo endoplasmático

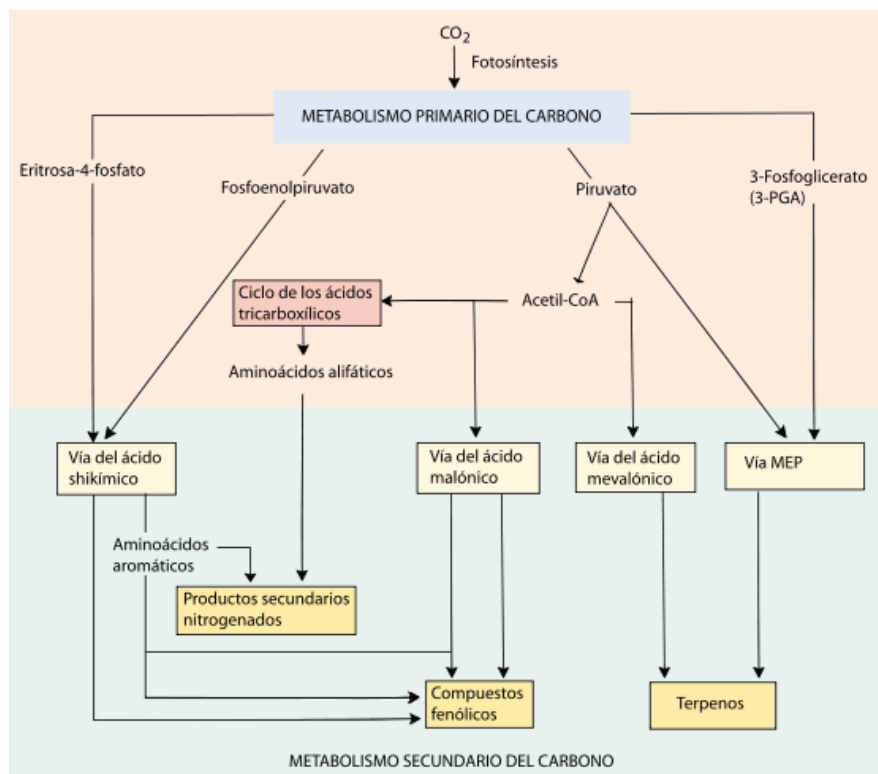
de las plantas y en algunas levaduras, bacterias y protozoos (Productos naturales orgánicos 2004). Se necesitan de 5 pasos para obtener el bifosfato de isopentenilo (ver Figura 5). El ciclo comienza con la conversión de acetato a acetil CoA. Dos moléculas de acetil CoA sufren una condensación de Claisen y se produce acetoacetil CoA. Luego se da una segunda reacción por adición aldólica, de carbonilo con una tercera molécula de acetil CoA para dar como resultado el compuesto de 6 carbonos 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA. La HMG-CoA (o 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA) es reducida para formar el mevalonato. La fosforilación, seguida por la pérdida de CO<sub>2</sub> y del ión fosfato, completa el proceso dando como resultado un difosfato de isopentenilo.

**Cuadro 5.** Biosíntesis del difosfato de isopentenilo



Para la producción de terpenoides se debe convertir el difosfato de isopentenilo. La conversión comienza con la isomerización del bifosfato de isopentenilo (IPP) a difosfato de dimetilalilo, o pirofosfato dimetilalilo (DMAPP). El IPP y DMAPP se combinan para dar la unidad C<sub>10</sub> difosfato de geranilo (GPP). El alcohol correspondiente, geraniol, es ya un terpenoide aromático que se encuentra en el aceite de las rosas. El GPP se combina luego con el IPP para dar la unidad C<sub>15</sub> o difosfato de farnesilo (FPP), y éste se combina de forma sucesiva con el IPP para dar la unidad C<sub>25</sub>. Los terpenoides con más de 25 carbonos (triterpenos y tetraterpenos) son sintetizados por dimerización de unidades C<sub>15</sub> y C<sub>20</sub>, respectivamente. Los triterpenos y esteroides provienen de la dimerización reductiva del FPP para dar el escualeno (McMurry 2004).

**Figura 5.** Ruta biosintética de metabolitos secundarios



De los ejemplos que se pueden dar de las familias que contienen aceites esenciales se encuentran las Coníferas (*Pinus* sp.), Apiáceas o Umbelíferas (anís, hinojo), Labiadas o Lamiáceas (menta, melisa, lavanda, albahaca), Lauráceas (canela), Asteráceas (manzanilla), Mirtáceas (eucalipto, clavo) y las Rutáceas (cítricos) (Kuklinski 2000). Estas familias son las más comunes a nivel de industria para la extracción de aceites esenciales, sin embargo, hay un sinnúmero de familias de las cuales se extraen valiosas esencias.

La localización y distribución de los aceites esenciales dentro de los tejidos vegetales depende de la especie. En general se pueden encontrar en la raíz o rizomas (cúrcuma, jengibre), fruto (anís, enebro), corteza (canela), leño (alcanfor), sumidades floridas (menta, lavanda, romero), flores (manzanillas) y hojas (eucalipto, laurel, boldo) (Kuklinski 2000). Los aceites esenciales se acumulan en cavidades secretoras, pelos secretores, canales secretores, etc. Pueden intervenir en la polinización, sobre la cual ejercen un efecto de atracción sobre algunos insectos; y, actúan como defensas frente al ataque de parásitos e insectos.

2. Composición química y clasificación. Los aceites esenciales son mezclas complejas, normalmente líquidas, que presentan una característica en común: su volatilidad. Sus componentes son los responsables del olor de muchas plantas. En la enciclopedia de Aceites Esenciales de Guenther (1949) se establece que la diferencia de aceites grasos y aceites esenciales se encuentra en la volatilidad y el origen de las plantas.

Mucho antes del avance en el campo de la química, únicamente se sabía que al calentar las plantas se formaba un vapor con olor y que si sufría un proceso de condensación y de enfriamiento se formaban pequeñas gotas que en un medio líquido simulaban agua y aceite. Gradualmente con el paso de los años y los descubrimientos tecnológicos se perfeccionaron los métodos para la preparación de aceites y se adquirió un conocimiento más profundo sobre los constituyentes de dichos aceites. Se encontró por ejemplo que los aceites esenciales contenían principalmente líquidos y en menor cantidad compuestos volátiles de diversas clases de sustancias orgánicas. De los primeros componentes descubiertos en los aceites esenciales se encontraron hidrocarburos acíclicos e isocíclicos y sus derivados oxigenados (Guenther 1949).

En la actualidad se sabe que químicamente están formados principalmente por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos. Pueden ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos, etc. En ocasiones llevan también derivados de fenil propano y raramente cumarinas. Pueden contener también compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos) (Carretero 2001). En la clasificación por Kuklinski (2000) los aceites esenciales se clasifican como terpenoides y no terpenoides. Los terpenoides proceden de la condensación del isopreno ( $C_5$ ) y pueden tener o no tener oxígeno. Los hidrocarburos carecen de oxígeno y dentro de ellos se encuentran los monoterpenos ( $C_{10}$ ) y sesquiterpenos ( $C_{15}$ ). Estos últimos pueden ser aromáticos o alifáticos. Los terpenos que contienen oxígeno son terpenos aliados con fenoles, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres, ésteres o peróxidos. Los no terpenoides provienen de rutas biosintéticas distintas, generando hidrocarburos con diferente estructura.

En el Cuadro # 6 se encuentra la clasificación hecha por Guenther (1949) de los

componentes de los aceites esenciales en cuatro grupos principales.

**Cuadro 6.** Clasificación de los componentes de los aceites esenciales

<p>Terpenos, derivados de isoprenos e isopentenos</p> <p>Compuestos de cadena lineal</p> <p>Derivados de Benzeno</p> <p>Miscelaneos</p>
---

Ya que los terpenos son parte de los bloques fundamentales de la estructura de los aceites esenciales, es importante hacer énfasis en ellos. Los terpenos tienen enlaces dobles C – C. Algunos son hidrocarburos y otros contienen oxígeno, algunos son moléculas de cadena abierta y otros contienen anillos. McMurry (2004) pone de ejemplo a la carvona, la cual es una cetona aislada de la menta verde y al alfa-pineno, que es el constituyente principal de la turpentina o aguarrás.

Los terpenos surgen de la unión de la cabeza a la cola de unidades de isopreno de cinco carbonos (2-metil-1,3-butadieno). Los terpenos se pueden clasificar dependiendo del número de unidades de isoprenos que contienen; por ejemplo los monoterpenos son compuestos de 10 carbonos a partir de la síntesis de dos unidades de isopreno, los sesquiterpenos son moléculas de 15 carbonos a partir de tres unidades de isopreno, los diterpenos son sustancias de 20 carbonos con cuatro unidades de isopreno. Los mono y sesquiterpenos son los más comunes en las plantas. Los terpenos superiores se presentan también en animales y tienen papeles importantes en la función biológica (por ejemplo hormonas esteroidales) (McMurry 2004).

La cantidad de componentes que presentan los aceites esenciales va a depender de la especie vegetal, el ciclo de la especie, las condiciones ambientales, las características del cultivo y el procedimiento de obtención. Por ejemplo Guenther (1949) indica que hay una relación directa en la forma en que se cultivan las plantas y el porcentaje de aceite esencial producido. La calidad de las plantas depende directamente de la fertilidad del suelo y de las condiciones climáticas. Los aceites están contenidos principalmente en las hojas y flores por lo se que se debe cultivar plantas con abundantes sumideros florales y foliares.

Carretero (2000) clasifica los aceites esenciales según su consistencia (esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas), por su origen (naturales, artificiales y sintéticos) y por la clase química de componentes (monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides).

3. Importancia. La planta, como un organismo vivo sufre varios procesos metabólicos para su desarrollo. Muchas sustancias externas son absorbidas y transformadas en los bloques de construcción que sirven para el buen funcionamiento y crecimiento de la planta. Productos como la celulosa se depositan en las paredes celulares dándole a la planta una estructura más rígida, mientras que el almidón se almacena como fuente de energía y como material orgánico para futuros procesos metabólicos. Es fácil asignar las funciones en la planta a estos compuestos, sin embargo resulta un poco más difícil atribuirle funciones a sustancias como alcaloides, antocianinas, flavonoides, aceites esenciales y resinas. Los aceites esenciales, sin embargo, han demostrado tener una amplia variedad de aplicaciones en muchas industrias, por sus propiedades aromáticas, alimenticias, insecticidas y medicinales. Algunas de estas sustancias volátiles tienen un gran valor antiséptico, analgésico, hemolítico, sedante, estimulante, entre otros. Son muchas las actividades que se han descrito para muchos aceites esenciales, aunque todavía falta mucho que comprobar.

A continuación, en el Cuadro # 7 se presentan varias de las industrias que emplean aceites esenciales.

**Cuadro 7.** Lista de industrias que utilizan aceites esenciales

Industria	Producto
Adhesivos	Gomas, papel
Alimentos	Pasteles, galletas, donas, pies, pudines.
Insecticidas	Repelentes, rodenticidas, acaricidas,

	insecticidas.
Perfumería	Lipsick, lociones, polvos, aguas de colonia, faciales, incienso.
Farmacia	Antiácidos, preparaciones medicinales, tónicos, elíxires, laxantes, antidiabéticos, antiespasmódicos, etc.

(Tomado del libro de Farmacognosia de Claudia Kuklinski 2010)

La actividad biológica de la albahaca se atribuye al aceite esencial que le confiere propiedad aromática, antiséptica, aperitiva, antioxidante, digestiva, carminativa, espasmódica, insecticida y sedante.

4. Obtención. Desde hace siglos se han obtenido aceites esenciales a través de la destilación por arrastre de vapor (McMurry 2004). Por estar constituidos por mezclas de terpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos, los aceites esenciales contienen sustancias farmacológicamente activas (Sharapin 2000).

Por lo general, la determinación de aceites esenciales en plantas se realiza por medio de la destilación por arrastre con vapor de agua, en un aparato especial y en condiciones especiales. Las partes que comprenden un aparato de destilación son: un matraz o bulbo de fondo redondo con cuello esmerilado, un condensador con vidrio de bajo coeficiente de expansión o dilatación y con extremos esmerilados, un aparato de calentamiento apropiado que permita un control preciso de la temperatura y, un soporte vertical con anillo horizontal cubierto con material aislante (Solís *et al.* 2004).

Existen diversos métodos de determinar los aceites esenciales en plantas. Los

métodos de destilación se pueden llevar a cabo por hidrodestilación o por destilación mixta. La destilación mixta consiste en poner el agua en el mismo recipiente que la planta pero sin que entren en contacto. La planta se coloca sobre una rejilla y el agua está en el fondo del recipiente. Se lleva a ebullición y el vapor sube por la rejilla arrastrando los aceites esenciales. Luego se condensa, se recoge y se separan los aceites esenciales del agua. En la hidrodestilación sí se ponen en contacto la fuente vegetal y el agua y se llevan a ebullición. Se debe macerar previamente el material vegetal. Al calentarse el agua se transforma en vapor de agua y éste arrastra la esencia, se condensa, se recoge en un recipiente y después se separan la fase orgánica (con los aceites esenciales) y el agua.

El producto destilado puede ser recolectado en tubos graduados, utilizando diversos solventes para capturar el aceite (xileno es el más común utilizado); la fase acuosa es separada de la fase oleosa y devuelta al balón de destilación (Sharapin 2000). Aunque el principio de separación de los aceites es el mismo, los equipos para su determinación cambian en algunos aspectos.

El principio de la técnica utilizada para este trabajo se basa en que el vapor del agua arrastra los compuestos volátiles de la fuente vegetal y la mezcla es condensada y destilada en un balón de vidrio esmerilado. La planta se coloca en un balón y se agrega agua destilada o de chorro. Se debe calentar el líquido hasta ebullición para que la corriente de vapor producido arrastre los aceites esenciales. Al pasar por el condensador, se condensa el vapor de agua junto con los aceites y se recuperan en un balón. Posteriormente se separan los aceites del agua por sus diferentes densidades. La separación se puede llevar a cabo con diferentes solventes (por ejemplo éter dietílico).

#### H. Métodos de identificación de compuestos químicos

Existen varios métodos de identificación de compuestos químicos utilizados en el mundo. Para la identificación de compuestos que se encuentran en aceites esenciales, que generalmente son volátiles e inestables, dos de los métodos más destacados son la cromatografía de gases y la espectrometría de masas. La cromatografía de gases es un método muy utilizado para separar, identificar y

determinar los compuestos químicos de una mezcla compleja, ya sea dependiendo su densidad, su velocidad o su peso molecular. Con los compuestos separados se hace uso del espectrómetro de masas, en el cual la muestra se convierte en átomos libres y iones elementales en fase gaseosa. Una fuente de radiación externa se aplica al analito y los átomos absorben la energía y aparecen las longitudes de onda referentes a cada uno de los compuestos. Es importante hacer uso de estas técnicas para poder determinar los componentes químicos presentes en la albahaca, *Ocimum basilicum* L.

1. Cromatografía de gases. La cromatografía de gases (CG) es una técnica de separación cromatográfica basada en la diferencia de la distribución de las especies entre dos fases inmiscibles, donde la fase móvil es un gas acarreador que se mueve a través de la fase estacionaria contenida en una columna. Es aplicable a sustancias o sus derivados que sean volátiles bajo la temperatura empleada. La cromatografía de gases se basa en mecanismos de adsorción, distribución de masas o exclusión de tamaño (Solís *et al.* 2003).

Existen varias clases de cromatografía entre las cuales, las más importantes son: de adsorción, de reparto, de intercambio iónico y de filtración molecular. Sus características principales se resumen en el Cuadro # 8.

• **Cuadro 8.** Características de las diferentes clases de cromatografía

	<b>Adsorción</b>	<b>Reparto</b>	<b>Intercambio iónico</b>	<b>Filtración molecular</b>
Fase estacionaria	Sólida	Líquida	Sólida	Sólida
Fase móvil	Líquida o gaseosa	Líquida o gaseosa	Líquida o gaseosa	Líquida
La velocidad de la migración varía	Interacción molecular entre el soluto y el solvente	Solubilidad diferencial del soluto entre las fases	Intercambio de iones entre la solución y la fase estacionaria	Grado de inclusión en los poros de la fase estacionaria
Propiedad diferenciadora	Polaridad	Solubilidad	Ionización	Tamaño molecular

(Tomado del libro Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos de Solís *et al.* 2004)

Los diferentes tipos de cromatografía pueden ser utilizados a través de diversas técnicas, siendo las principales: cromatografía en papel, cromatografía en capa fina, cromatografía de gases, cromatografía en columna y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

La cromatografía en fase gaseosa es una técnica que permite la separación de sustancias volatilizables. La separación tiene como base la distribución diferencial de las sustancias entre una fase estacionaria (sólida o líquida) y una fase móvil (gaseosa) (Solís *et al.* 2003). Skoog (2008) la describe como un método muy utilizado ya que permite no sólo la separación, sino también la identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas compuestas. La muestra es introducida en una columna que contiene la fase estacionaria, a través del sistema de inyección. Temperaturas apropiadas en el sitio de la inyección y en la columna, posibilitan la volatilización de los componentes de la muestra los cuales, de acuerdo con sus propiedades y las de la fase estacionaria, son retenidos por tiempos variables y llegan al final de la columna en tiempos diferentes. Un detector adecuado, a la salida de la columna, permite la detección y la cuantificación de las sustancias. Los resultados son cualitativos y cuantitativos y se obtienen en un espacio de tiempo corto (Solís *et al.* 2003). La desventaja que presenta esta técnica es que para cada componente o grupo de componentes se deben tener establecidos diferentes factores fisicoquímicos.

En la cromatografía gas-líquido, la fase estacionaria es un líquido poco volátil que recubre un soporte sólido o las paredes de la columna. El mecanismo de separación se produce mediante la partición de las moléculas de la muestra entre la fase estacionaria y la fase móvil (líquida y gaseosa). La fase líquida debe solubilizar selectivamente las sustancias de la muestra, debe ser termoestable, presentar una baja volatilidad a la temperatura en la cual se realiza el análisis y ser químicamente inerte en relación con los componentes de la muestra (Solís *et al.* 2003).

Los componentes de la muestra son transportados a través de la fase estacionaria por el flujo de la fase móvil, y son separados por las diferencias de velocidad de migración. Es por eso que la cromatografía de gases es importante en la terminación de un análisis, pues se utilizan los tiempos o volúmenes de retención para la identificación cualitativa. Los solutos de la mezcla son arrastrados a través de la fase

estacionaria por el movimiento de la fase móvil. Los compuestos que salen arrastrados se conocen como eluato. La fase móvil gaseosa proporciona un rápido equilibrio entre las fases con mayor eficiencia en la obtención de los análisis. Los gases más utilizados son nitrógeno, helio, hidrógeno y argón. Es muy importante tomar en cuenta que la fase móvil no debe interactuar con la fase estacionaria ni mucho menos con la muestra. Debe ser también compatible con el detector y tener alta pureza.

La elución es un proceso en el cual los solutos son arrastrados con la ayuda de un eluyente (disolvente que se usa para transporte de componentes) a través de una fase estacionaria por el movimiento de una fase móvil. Los eluatos luego son detectados por un detector al final de la columna. La columna consiste en un tubo largo que contiene la fase estacionaria. Los materiales más usados son el cobre, el acero, el aluminio, el vidrio y el teflón. El material de la columna tampoco debe interactuar con la fase estacionaria ni con la muestra. Entonces, las sustancias presentes en la muestra pasan a través de la columna, en donde son separadas y llegan al sistema de detección. Con relación a la selectividad, los detectores pueden ser clasificados en universales o selectivos o específicos. El detector responde a la concentración de soluto y se representa gráficamente su señal en función del tiempo en forma de picos. La respuesta del detector debe ser lineal dentro de un amplio intervalo de concentraciones. El análisis cuantitativo se puede llevar a cabo gracias a la relación directa que existe entre la respuesta del detector y la concentración de la muestra. Los ruidos son los cambios que se presentan a nivel de la línea base y generalmente son causados por efectos electrónicos. La cantidad mínima detectable debe presentar una respuesta por lo menos dos veces superior a la señal del ruido. Las alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa y cualitativa (Sharapín 2000). Los diferentes tipos de detectores son por conductividad térmica, de ionización de llama y de captura de electrones. Los registradores del cromatógrafo son análogos a los integradores y se encargan de presentar los tiempos de retención de las sustancias separadas al igual que las alturas y áreas de las señales cromatográficas. El termostato se encuentra instalado en el inyector, en la columna y en el detector. En el primero, la temperatura es suficientemente alta para volatilizar la muestra, pero no tan alta para permitir la descomposición de la muestra. En la columna la temperatura puede ser constante o programada y la temperatura del detector es generalmente superior a la de la columna e igual a la del sitio de inyección.

Como se mencionó en el inciso anterior, la técnica de cromatografía de gases es útil para análisis cualitativos y cuantitativos. Para análisis cualitativos los tiempos de retención de los compuestos son un medio excelente para confirmar la presencia o ausencia de algún compuesto de interés en una mezcla, siempre y cuando se disponga de un patrón (Skoog 2005). Los tiempos de retención no solo confirman la presencia o ausencia sino que también son útiles para evaluar la efectividad de los procedimientos de purificación, pues al estar una mezcla contaminada, los tiempos de retención varían y no se sigue el patrón deseado. Si se quiere determinar la pureza de la muestra se deben buscar picos adicionales en el cromatograma, pues éstos revelan la presencia de contaminantes y el área bajo los picos proporcionan un aproximado del grado de contaminación (Skoog 2008).

Para los análisis cualitativos se identifica la presencia de picos adicionales en la gráfica, y éstos proporcionan una idea del estado de la mezcla. Para obtener datos más exactos se deben realizar análisis cuantitativos y para ello se parte de la altura del pico y del área bajo el pico de los productos eluidos de la columna (Skoog 2008).

La identificación de la naturaleza química de los componentes de la muestra es obtenida por la comparación de los tiempos de retención de un patrón y de la muestra, acompañadas de técnicas auxiliares como el infra rojo, ultravioleta y visible, resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas, acopladas a la salida del detector (Sharapin 2000).

Debido a que la cromatografía de gases tiene la limitante que no es tan exacta para la identificación de compuestos, se recomienda el uso simultáneo de un espectrómetro de masas acoplado. Este sistema integrado combina las cualidades para la separación de la cromatografía de gases con las mejores propiedades de identificación que poseen los espectrómetros de masas.

2. Espectrometría de masas. La espectrometría de masas es una herramienta poderosa para la identificación de compuestos puros. Skoog (2005) la describe como un instrumento que produce iones y éstos se separan de acuerdo con

sus relaciones de masa-carga ( $m/z$ ). La mayoría de los iones tienen en común que sólo tienen una carga, por lo que la relación es simplemente el número de masa del ión. En un sistema de entrada se introduce una cantidad pequeña de muestra, donde los componentes se transforman en iones gaseosos (la muestra viene del cromatógrafo de gases cuando ambos sistemas están integrados) gracias al bombardeo con electrones, fotones o energía térmica o eléctrica. Los iones alterados salen como un flujo de iones positivos (lo más común) o negativos. El flujo llega al analizador de masas, el cual tiene como función dispersar los iones del analito dependiendo de su relación masa-carga. Un transductor convierte el haz de iones en una señal eléctrica que se procesa, almacena en una computadora y se muestra en una pantalla. Sin embargo es insuficiente para el análisis de mezclas debido al gran número de fragmentos con diferentes valores de  $m/z$  que se producen en cada caso (Skoog 2008). Por ello, se ha utilizado con frecuencia la espectrometría de masas acoplada a un cromatógrafo de gases.

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG/EM) permite la identificación de casi todos los compuestos asociando la separación cromatográfica en la fase gaseosa a una detección sensible y específica de la espectrometría. Así los compuestos ya separados son transferidos al detector del espectrómetro para ser analizados cualitativamente. Como producto se obtiene un espectro de masas característico de la sustancia fragmentada que permite su identificación a partir de la comparación con una base de datos espectrales (Sharapin 2000).

La cromatografía de gases en acoplo con un espectrómetro de masas se ha convertido en una herramienta aún más poderosa para el análisis de mezclas orgánicas y bioquímicas complejas. Los espectros de los compuestos se recolectan a medida que salen de la columna cromatográfica para luego almacenarlos y así poderlos analizar como la espectrometría de masas (Skoog 2008).

## I. Métodos estadísticos

1. Análisis de Varianza (ANDEVA). Los estudios de efectividad biológica usualmente implican el uso de una formulación que se desea evaluar con respecto a su capacidad de acción en un organismo o poblaciones plaga. Además del producto, se evalúan también diferentes dosis y métodos de aplicación. Para evaluar los resultados es necesario crear un diseño experimental y una metodología estadística apropiada que permita obtener conclusiones científicamente válidas (Colegio de Postgraduados 2001). Un diseño experimental es una simple disposición temporal y/o espacial de n-tratamientos, cada uno de los cuales debe aplicarse en forma repetida. Los objetivos son comparar, con criterios estadísticos, el efecto de los tratamientos medidos en un grupo de organismos.

El análisis estadístico que permite realizar la comparación de tratamientos en base a un diseño experimental se llama análisis de varianza (ANDEVA). Su nombre implica la comprobación, mediante un análisis, de la variabilidad o varianza entre los diferentes tratamientos y repeticiones. En otras palabras, un análisis de varianza permite determinar si existe o no diferencia de al menos un tratamiento con respecto a la variable medida y así determinar si se rechaza o se acepta la  $H_0$ . Todo diseño experimental supone la existencia de al menos tres condiciones experimentales controlables que son de interés para comprobar con respecto a una variable medible en un grupo de organismos. Las condiciones controlables se conocen como tratamientos y a los individuos seleccionados a los que se le aplica un tratamiento son las unidades experimentales. La variable medible se conoce también como la variable respuesta (Colegio de Postgraduados 2001).

Para trabajar con un análisis de varianza se requiere que para cada tratamiento se hagan repeticiones a diferentes unidades experimentales y que el mismo tratamiento tenga la misma probabilidad de ser aplicado a cualquier unidad experimental, es decir, que se haga el experimento de una manera aleatoria (Anderson 2005).

El análisis de varianza culmina con la prueba de hipótesis con respecto a los tratamientos, es decir, con la decisión de aceptar o rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ).

La fórmula general de las hipótesis que se prueban es:

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 \dots \dots = \mu_n$

$H_a$ : no todas las medias de la población son iguales

Si las medias son iguales para todas las poblaciones, cabe esperar que las medias de la muestra se aproximen entre sí. Entonces, si la variabilidad entre las medias de las muestras es “pequeña” se respalda  $H_0$ . Si se acepta que al menos uno de los tratamientos tiene un efecto diferencial con respecto a los demás, es necesario efectuar una prueba de comparación de tratamientos. El objetivo de estos métodos es determinar en forma precisa qué tratamiento es más efectivo estadísticamente (Anderson 2005).

2. Prueba de Tukey. La prueba de Tukey, es una prueba estadística de comparación múltiple utilizada en conjunto con ANOVA para encontrar si las diferencias son significativas entre medias. La prueba compara todos los posibles pares de medias. Tukey hace uso de la amplitud “studentizada” y es aplicable a pares de medias. Tan solo necesita de un solo valor para juzgar la significancia de todas las diferencias. Sólo se hacen comparaciones por pares, el valor crítico es menor que el exigido por el método de Scheffé o Duncan. Todos los pares de medias constituyen una familia y la tasa de error es familiar, como lo es el coeficiente de confianza cuando se construyen estimaciones de intervalo de diferencias. En otras palabras, es un análisis estadístico que se realiza para comparar medias con relación a una variable cuantitativa. Se puede describir la  $t$  de Student o Prueba de Tukey como la herramienta que se usa en un modelo en el que la variable independiente intenta explicar una variable dependiente. Esta prueba se basa en el cálculo de estadísticos descriptivos previos, como por ejemplo el número de observaciones, la media y la desviación típica en cada grupo. Con la ayuda de tablas se obtiene a partir de dicho estadístico el valor  $p$ . Si  $p < 0.05$  se concluye que hay diferencia entre los dos tratamientos (Manual SPSS 2008).

### III. JUSTIFICACIÓN

Muchas de las plagas de cultivos son microorganismos e insectos que terminan alimentándose de las plantaciones y sus productos, trayendo pérdidas económicas considerables. Una de las amenazas más importantes para los sistemas de almacenaje de granos son los insectos que se encuentran afectando el producto, reduciendo así la producción y calidad del mismo.

En Guatemala, el método tradicional de reducción y/o control de poblaciones de plagas es el uso de plaguicidas químicos. En el caso de los granos almacenados se utiliza bromuro de metilo, fósforo de aluminio y otros insecticidas que se rocían sobre los granos, lo cual ha favorecido el desarrollo de resistencia por parte de los insectos, y por ende, se ha tenido que aplicar mayores cantidades de veneno o mayor concentración del ingrediente activo.

Actualmente se han prohibido varios de los agroquímicos utilizados como control de plagas, debido que provocan daños ambientales, económicos, sociales y que afectan la salud humana. La necesidad de proteger los productos almacenados del ataque de los insectos se ha incrementado en las últimas décadas.

El control orgánico (control químico derivado de extractos especies vegetales) de plagas es una forma de controlar las poblaciones de insectos, pues no daña al huésped ni al medio que lo rodea. Este tipo de control de plagas es ahora una estrategia que ha cobrado mucha importancia para la producción agrícola y es por eso que el presente informe de investigación es de gran valor, pues propone, a partir del aceite esencial de la albahaca *O. basilicum* (Lamiaceae), disminuir las poblaciones del gorgojo castaño de la harina *T. castaneum*, que se encuentra afectando los sistemas de almacenaje de granos en Guatemala.

Es importante también obtener un perfil químico de los componentes que dicho aceite esencial presenta, pues así se puede comprobar la existencia de los

componentes que le atribuyen las propiedades insecticidas a la planta.

## IV. OBJETIVOS

### A. Objetivo general

- Realizar una evaluación sobre la actividad insecticida de tres concentraciones del aceite esencial de albahaca *O. basilicum*, provenientes de dos cultivares producidos en los departamentos de Santa Rosa y Sololá, sobre el gorgojo castaño de la harina *T. castaneum*.

### B. Objetivos específicos

- Extraer el aceite esencial de hojas, tallos e inflorescencias de *Ocimum basilicum* L. por medio de la técnica de Destilación por arrastre con vapor de agua.
- Determinar, mediante la técnica de cromatografía de gases con espectrometría de masas acoplada (CG/EM), el perfil químico de los componentes de las dos variedades del aceite esencial de la albahaca.
- Evaluar la actividad insecticida de los aceites esenciales provenientes de las variedades de Santa Rosa y Sololá, sobre *T. castaneum* Herbst. a nivel de laboratorio.
- Evaluar la actividad insecticida de los aceites esenciales provenientes de las variedades de Santa Rosa y Sololá, sobre *T. castaneum* Herbst. a una escala mayor.

## V. HIPÓTESIS DE TRABAJO

**H0:** El aceite esencial de la albahaca, *O. basilicum* (Lamiaceae), no presenta actividad insecticida sobre el gorgojo castaño de la harina, *T. castaneum* (Tenebrionidae) a ninguna concentración.

**H1:** El aceite esencial de la albahaca, *O. basilicum* (Lamiaceae) presenta actividad insecticida sobre el gorgojo castaño de la harina, *T. castaneum* (Tenebrionidae) por lo menos a una de las concentraciones estudiadas.

## VI. MATERIALES Y METODOLOGÍA

### A. MATERIALES

Este trabajo de investigación comprendió dos procedimientos en general. En primer lugar se extrajo el aceite esencial de albahaca de las variedades producidas en Sololá y Santa Rosa. En segundo lugar se diseñó un experimento a nivel *in vitro* y otro a nivel de escala mayor para la aplicación del producto destilado. A continuación se presenta en detalle cada uno de los pasos para la elaboración de esta investigación.

1. Material vegetal. El laboratorio de productos fitofarmacéuticos FARMAYA S. A. proporcionó 2 kg de albahaca morada ya deshidratada (tallos, hojas e inflorescencias). La materia vegetal provino de dos localidades de Guatemala, San Andrés Sololá y Santa Rosa.

2. Material biológico. Se realizaron colectas de granos infestados por poblaciones del gorgojo castaño de la harina *T. castaneum* en los silos de Arovigra en el departamento de Escuintla. En coladores se cernió el grano infestado y se separaron en recipientes de plástico larvas y adultos de gorgojos. Los adultos se descartaron y se esperó cuatro semanas a que las larvas desarrollaran su estadio de adultos. Esto se realizó para poder obtener adultos de edad estandarizada.

## B. PROCEDIMIENTO

1. Obtención del aceite esencial. Los aceites esenciales de las dos variedades de albahaca fueron obtenidos por el método de destilación por arrastre con vapor de agua (o hidrodestilación), durante una hora, en un equipo de destilación por reflujo descrito por Clevenger utilizando la parte aérea del vegetal y agua.

Para una extracción más eficiente se cortaron, con tijeras limpias, las hojas, tallos y las inflorescencias de la albahaca en finos segmentos. Se utilizaron todas las partes aéreas de la planta, pues Guenther (1949) en la Enciclopedia de Aceites Esenciales, sugiere utilizar todas las partes de la materia vegetal en procesos de destilación. Además, el aceite esencial en la albahaca se encuentra distribuido en todos los órganos.

Como primer paso se armó el kit de destilación (*kit Corning*) como se muestra en la Figura # 6. Se utilizaron 1600 g de albahaca seca finamente cortada (800 g por cada variedad) y se colocaron en un balón esmerilado de tres bocas con capacidad de 500 ml<sup>1</sup>, marca *Pyrex*. Se le agregaron 75 ml de agua a temperatura ambiente para remojar la materia seca. Simultáneamente se calentó 450 ml de agua en un balón con una boca esmerilada. Al estar conectados todos los conductos del sistema se calentó el agua en el balón hasta llegar a ebullición y se comenzó el proceso de destilación. En un beaker (marca *Pyrex*) se obtuvo el aceite junto con el agua y se tapó con un vidrio de reloj para evitar perder parte de los componentes del aceite<sup>2</sup>.

El producto destilado se colocó en un embudo de decantación (marca *Durán*) y se agregó éter dietílico (se mezcló el éter dietílico con el producto destilado varias veces para liberar presión). Se recibió la capa acuosa en el mismo beaker que contenía el producto destilado. El proceso de decantación se realizó dos veces. A la capa etérea se le agregó agente secante<sup>3</sup> (NaHSO<sub>4</sub>) para luego decantarlo en otro balón, marca

---

<sup>1</sup> Por la limitante de la capacidad de los balones, se realizaron varias corridas para cada extracción. Por cada variedad se corrió ocho veces el proceso de destilación.

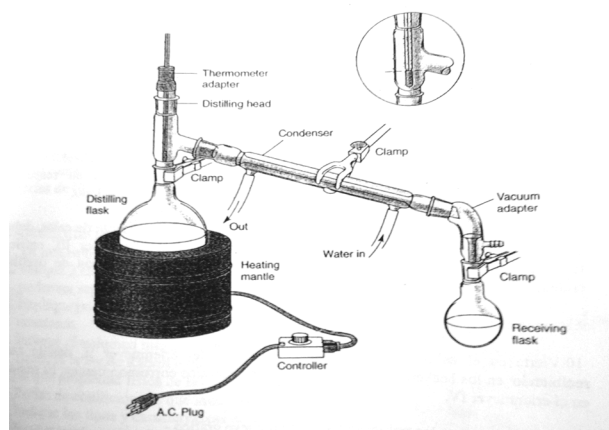
<sup>2</sup> Los aceites esenciales, a pesar de ser líquidos a temperatura ambiente, tienden a ser volátiles.

<sup>3</sup> El agente secante extrae el resto de agua para obtener un producto más puro.

*Pyrex.*

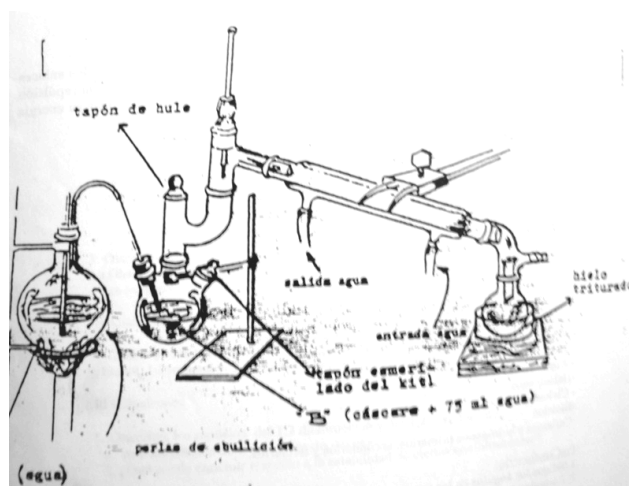
Como último paso se armó un sistema de destilación simple *Kit Corning* para eliminar el éter dietílico y obtener el aceite lo más puro posible.

**Figura 6.** Sistema de destilación simple. Kit Corning



Se repitió el procedimiento completo dos veces para cada variedad de albahaca. Se obtuvo un total de 4 ml de aceite esencial puro por cada variedad.

**Figura 7.** Sistema de destilación por arrastre con vapor de agua. Kit Corning



2. Determinación del perfil químico. Se reservaron 10  $\mu$ l del aceite para el análisis químico. La composición química de los aceites se determinó mediante un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG/EM). Las condiciones del método fueron las siguientes:

**Condiciones del horno:** la temperatura inicial fue de 50° C a un tiempo inicial de 5 minutos. La temperatura máxima fue de 325° C con un tiempo de equilibración de 2 minutos. El flujo se mantuvo constante a 0.5 ml/min. La primera rampa tuvo un rango de 3 con una temperatura final de 150° C, la segunda con un rango de 10 y una temperatura final de 250° C y la tercera se mantuvo apagada. La velocidad promedio fue de 26 cm/seg.

**Condiciones del inyector:** modo splits, la temperatura inicial fue de 250° C, a una presión de 1.04 psi. El ratio del splits fue de 5:1, el flujo de splits fue de 2.5 ml/min, para obtener un flujo total de 6 ml/min. El gas utilizado fue helio.

Del detector lo único que se puede mencionar es la temperatura a 280° C, la cual es la temperatura de la interfase, no del detector.

**Condiciones de la columna:** el tipo de columna utilizado fue Agilent 19091S-433E HP-5MS (5% fenil metil siloxano) de 30 metros de largo, diámetro de 25 mm y un grosor de la película de 0.25  $\mu$ m.

**Condiciones del detector de masas:** el rango de masas va de 10 a 500 UMA (unidades de masa atómica).

**Condiciones de temperatura del espectro de masas:** la temperatura de la fuente fue de 230° C y 150° C para el cuádruplo.

El tiempo total de corrida fue de 53.33 minutos. Las condiciones se mantuvieron iguales para ambas variedades de albahaca.

Antes de empezar se inyectó una muestra para limpiar cualquier residuo que haya quedado impregnado de corridas pasadas y para calibrar el cromatógrafo. Ya con el cromatógrafo listo se inyectó 1  $\mu$ l del aceite con una microjeringa en la columna cromatográfica. La muestra volatilizada pasó a través de la columna capilar de fenil-metil-siloxano. Los compuestos en la columna se volatilizaron y llegaron al sistema de detección a través del helio como gas inerte. El detector (rango de escaneo de 10-500 unidades de masa) midió la variación de las propiedades de los compuestos y se obtuvo un cromatograma. Se utilizó el tiempo de retención de los analitos como variable para identificar los compuestos (puesto que el tiempo de retención es

característico para cada compuesto).

Por medio del espectrómetro de masas se midieron los iones derivados de las moléculas del aceite esencial y así se lograron identificar los principales componentes del aceite.

3. Elaboración de soluciones. Ya con el aceite obtenido se procedió a elaborar las soluciones. Se elaboraron en total seis soluciones a tres distintas concentraciones. Se elaboraron tres soluciones por cada variedad. Se tomó 1 ml del aceite esencial de la albahaca y se diluyó en 9 ml de agua y acetona (5:4) para obtener 10 ml de solución. De esta solución se obtuvo una segunda, diluyendo 5 ml de la mezcla en 5 ml de agua y una tercera solución diluyendo 5 ml de la mezcla en otros 5 ml de agua. El proceso se realizó dos veces para cada variedad de albahaca. De esa forma se obtuvieron seis soluciones a tres diferentes concentraciones (10%, 5% y 2.5%). A cada una de las soluciones se les añadió el 1% de jabón potásico para mejorar la penetración del aceite.

4. Reproducción de poblaciones de gorgojos. Los granos infestados de gorgojos se tamizaron y se separaron las larvas y los adultos. Los adultos se desecharon y se colocaron las larvas en contenedores plásticos con tapaderas con gasa para que se desarrollaran en adultos. Los recipientes se colocaron en un cuarto bajo condiciones ambientales controladas (25-30° C). El ciclo duró aproximadamente cuatro semanas. Se seleccionaron los individuos que se desarrollaron en un período similar para obtener así individuos estandarizados. Se obtuvieron 650 gorgojos, 350 para la parte *in vitro* y 300 para el ensayo a escala mayor.

5. Aplicación *in vitro* de las soluciones. Para este estudio se utilizaron siete tratamientos con cinco repeticiones cada uno. Los tratamientos consistieron en las soluciones preparadas a partir del aceite esencial de albahaca. Se colocaron diez gorgojos por caja petri con granos variados. No se utilizó papel filtro. El ensayo consistió en una sola aplicación en spray de las distintas soluciones sobre la superficie de los gorgojos. El spray o atomizador se estandarizó previamente para cuantificar el atomizado. Se utilizaron cinco cajas petri con diez gorgojos cada una para cada solución evaluada, mas cinco cajas petri como testigo, obteniendo un total de 35 cajas

petri y 350 gorgojos. Se registraron los datos de mortalidad de los gorgojos a las 24, 48, 72 horas y a la semana luego de la aplicación. Se tomaron en cuenta únicamente los gorgojos que no presentaban ningún tipo de movimiento (no debe haber movimiento de patas).

6. Aplicación de las soluciones a escala mayor. En esta sección se utilizaron tres tratamientos con cinco repeticiones cada uno. Los tratamientos consistieron en las dos soluciones que mejor efectividad presentaron en cuanto al control de los gorgojos. Se seleccionaron las soluciones SS 5% (Sololá al 5%) y SR 5% (Santa Rosa 5%). La unidad experimental consistió en un recipiente de plástico con 1 kg de trigo limpio. Para el diseño experimental se realizó una infestación artificial del grano con 20 gorgojos por cada repetición. Para la aplicación de los tratamientos se sacó el grano infestado de los botes y se depositó sobre el suelo. Se revolvió con palas limpias para evitar que los gorgojos quedaran en el fondo. Como primer paso se rociaron las paredes de los recipientes de plástico como método de prevención. Las aplicaciones se realizaron también por medio de un spray estandarizado. Se aplicaron las soluciones sobre el grano esparcido en el suelo y se colocó de nuevo en los recipientes. El primer tratamiento que se aplicó fue el testigo, utilizando como solución únicamente agua, acetona y jabón. Se obtuvieron en total 15 repeticiones y 300 gorgojos. La humedad del grano no debe sobrepasar el 15% pues favorece la proliferación de hongos y microorganismos. El trigo utilizado en la evaluación registró un 12% de humedad antes de ser aplicados los tratamientos. Para evitar el crecimiento de microorganismos se aplicaron 5 ml de cada solución por kilogramo de grano, equivalente a 0.5% de humedad en peso. La variable respuesta en este caso fue la muerte de los gorgojos, determinada por la ausencia de movimiento en las patas. Se registró el número de especímenes muertos dentro de cada unidad experimental a las 24, 48, 72 horas y a una semana de la aplicación de las soluciones.

7. Análisis estadísticos. El objetivo de crear un diseño experimental es poder comparar estadísticamente los efectos de los tratamientos en el grupo selecto de individuos. Por ser un estudio de tres factores (muerte, días y concentraciones), se corrió un Análisis de Varianza de tres vías o factores para aceptar o rechazar la hipótesis nula. Al encontrar diferencias significativas se optó por correr una prueba de Tukey para comparar las medias de los tratamientos para determinar cuáles dieron

mejores resultados. Tanto en la fase de laboratorio como en la fase a escala mayor se utilizó el Análisis de Varianza y la prueba de Tukey. El objetivo de utilizar estos métodos fue determinar en forma precisa qué tratamiento fue el más efectivo respaldado por estadísticas confiables. El nivel de error se estimó para un valor de p-value ( $<0.05$ ).

## VII. RESULTADOS

En este estudio se determinó el perfil químico de los aceites esenciales de dos variedades de albahaca morada, *O. basilicum*, provenientes de San Andrés Sololá y Santa Rosa y se evaluaron sus potenciales insecticidas en adultos de *T. castaneum*. El material vegetal se obtuvo del Laboratorio de Productos Fitoterapéuticos, FARMAYA S. A. La albahaca ya venía bajo las condiciones óptimas de almacenamiento, por lo que se llevó a destilación directamente.

### A. Obtención del aceite esencial de albahaca

El aceite esencial de la albahaca morada, *O. basilicum*, fue extraído exitosamente por medio de destilación por arrastre con vapor de agua durante una hora aproximadamente, en un equipo de destilación por reflujo, marca *Kit Corning*, utilizando los tallos, hojas y flores del vegetal y agua. Se utilizaron 800 gramos de cada variedad de albahaca y se obtuvo un total de 4 ml del extracto puro por variedad. Para obtener el % de rendimiento de la extracción se realizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{gramos obtenidos del aceite esencial}}{\text{gramos usados}} \times 100$$

$$0.475\% = \frac{3.8 \text{ gramos aceite albahaca}}{800 \text{ gramos albahaca}} \times 100$$

---

#### Propiedades organolépticas del aceite esencial

---

Apariencia: amarillo, líquido amarillo pálido

Aroma: olor a mezcla de anís y menta

Solubilidad: soluble en alcoholes y otros aceites, insoluble en agua

## B. Determinación del perfil

La composición química de los aceites esenciales se determinó mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS por sus siglas en inglés). El análisis cromatográfico se realizó en una columna capilar de fenil metil siloxano al 5% (Agilent 19091S-433E HP-5MS). Los espectros de masas se obtuvieron por cuádruplo dentro de un rango de masas  $m/z$  de 10 a 500 UMA. Los compuestos se identificaron por comparación de sus espectros de masas con los estándares registrados en las librerías del sistema. El Cuadro # 9 representa el perfil químico de los compuestos del aceite esencial de la albahaca obtenido del cromatógrafo de gases.

**Cuadro 9.** Perfil químico del aceite esencial de la albahaca

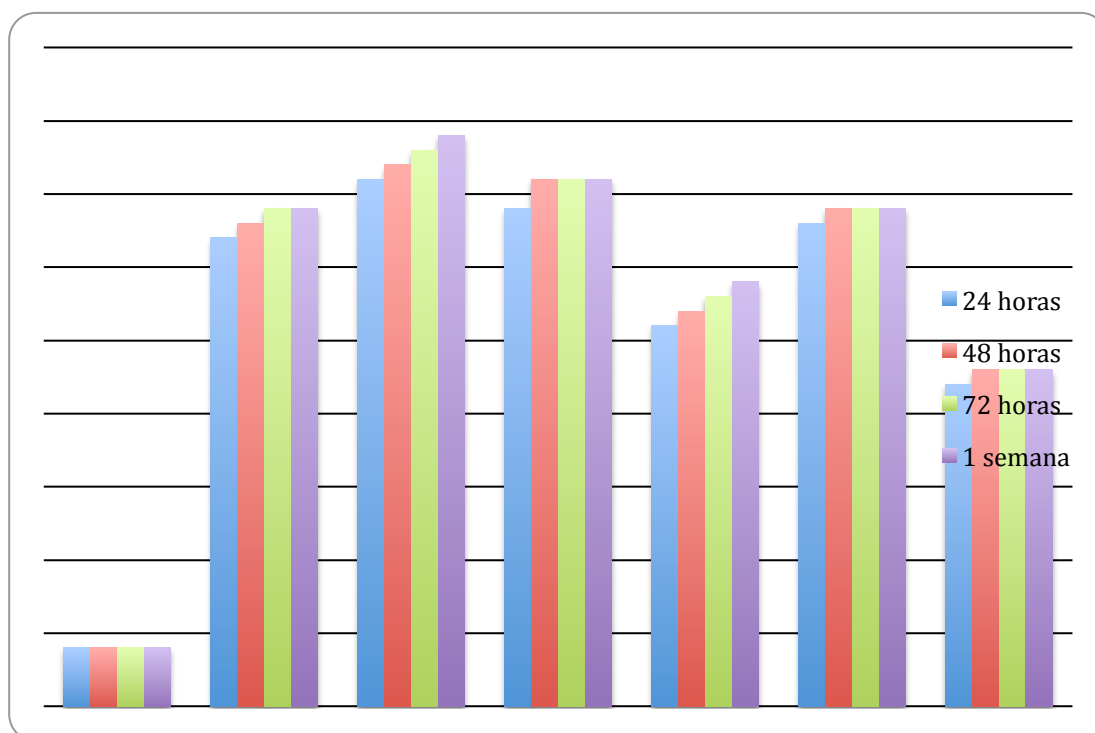
Compuestos		
$\alpha$ , $\beta$ -pineno	Germacreno	Alcohol bencílico
Canfeno	Spatulenol	Cinamato
1,8- cineol	3 Hexenol	Metil cinamato
p-cimeno	1-Penten-3-ol	Alcohol alfa dimetilfenil etílico
Geranial	Ciclohexanol	Ácido cloropropiónico
Alcanfor	3-Metil-3-buten-1-ol	
Linalool	Hexanal	
$\beta$ -cariofileno	2-hexanal	
Acetato de bornilo	2,4-heptadienal	
Mentol	Naftaleno epi biciclofelandreno	
$\alpha$ -terpineol	Metil 2-metilbutirato	
Eugenol	3-hidroxi-2-butanona	
Carvacrol	6-metil-5 heptenona	
Carvona	Ácido butanoico	
Geraniol	Ácido octanoico	
Anetol	Ácido decanoico	
Estragol (metil chavicol)	Ácido cloropropiónico	
4-terpineol	Benzaldehído	
Borneol	Metil benzoato	
Eucaliptol	Fenil acetaldehído	

C. Estadísticas de la evaluación a nivel *in vitro*.**Cuadro 10.** Mortalidad de gorgojos bajo siete tratamientos

TRATAMIENTO	MUERTE	DÍAS		
	24 horas	48 horas	72 horas	1 semana
CONTROL	1	1	1	1
	0	0	0	0
	1	1	1	1
	0	0	0	0
	2	2	2	2
<b>PROMEDIO</b>	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>	<b>0.8</b>
SS 10%	9	9	10	10
	8	8	8	8
	6	6	6	6
	5	6	6	6
	4	4	4	4
<b>PROMEDIO</b>	<b>6.4</b>	<b>6.6</b>	<b>6.8</b>	<b>6.8</b>
SS 5%	8	8	9	9
	10	10	10	10
	8	9	9	9
	4	4	4	5
	6	6	6	6
<b>PROMEDIO</b>	<b>7.2</b>	<b>7.4</b>	<b>7.6</b>	<b>7.8</b>
SS 2.5%	3	4	4	4
	9	9	9	9
	5	5	5	5
	9	9	9	9
	8	9	9	9
<b>PROMEDIO</b>	<b>6.8</b>	<b>7.2</b>	<b>7.2</b>	<b>7.2</b>
SR 10%	2	2	2	3
	3	3	3	3
	7	8	8	8
	9	9	9	9
	5	5	6	6
<b>PROMEDIO</b>	<b>5.2</b>	<b>5.4</b>	<b>5.6</b>	<b>5.8</b>
SR 5%	8	8	8	8
	6	7	7	7
	7	7	7	7
	7	7	7	7
	5	5	5	5
<b>PROMEDIO</b>	<b>6.6</b>	<b>6.8</b>	<b>6.8</b>	<b>6.8</b>
SR 2.5%	1	1	1	1
	5	5	5	5
	3	3	3	3
	5	6	6	6
	8	8	8	8
<b>PROMEDIO</b>	<b>4.4</b>	<b>4.6</b>	<b>4.6</b>	<b>4.6</b>

En el Cuadro #10 se observan los resultados de la mortalidad de los gorgojos en el estudio realizado con cajas petri. Se puede observar los resultados de los siete tratamientos por cada día registrado y un promedio de la muerte. Se puede observar también una diferencia fuertemente marcada entre el tratamiento testigo y las soluciones. Para el control se tuvo un promedio de muerte de 0.8 de cada 10 gorgojos, mientras que para el resto de tratamientos se obtuvo un promedio de muerte de más de cinco de cada diez gorgojos. El tratamiento SS 10% tuvo un promedio de 6.8 muertes, el tratamiento SS 5% obtuvo 7.8 muertes y el tratamiento SS 2.5% 7.2 muertes. Estos tratamientos corresponden al aceite esencial extraído de la albahaca de San Andrés, Sololá. Por su parte, los tratamientos correspondientes al aceite esencial obtenido de la albahaca de Santa Rosa obtuvieron un promedio de 5.8 muertes para el tratamiento SR 10%, 6.8 muertes para el tratamiento SR 5%, y 4.6 muertes para el tratamiento SR 2.5%.

**Figura 8.** Mortalidad de gorgojos bajo siete tratamientos



En la Figura # 8 se muestra una gráfica comparando los siete tratamientos durante la semana de estudio. Se observa claramente la diferencia entre el tratamiento testigo con las soluciones de los aceites esenciales. Al analizar los tratamientos de ambas localidades, se observa que los tratamientos que mejores resultados obtuvieron

son SS 10%, SS 5% SS 2.5 y SR 5%, mientras que los tratamientos que obtuvieron los resultados más bajos fueron SR 10% y SR 2.5%. Al comparar los resultados entre ambas localidades, se puede observar también que el mejor tratamiento de cada uno fue SS 5% para Sololá y SR 5% para Santa Rosa.

Una característica muy interesante que se observa es la diferencia en los tratamientos SS 10%, SS 5%, SS 2.5% y SR 10% más no en los tratamientos SR 5% y SR 2.5%. A pesar de la diferencia en la mayoría de los tratamientos, ésta no es significativa, como se observa en el Cuadro # 11.

**Cuadro 11.** Análisis de varianza de las pruebas realizadas a nivel in vitro

Pruebas de los efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: Muerte					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	651.850a	27	24.143	4.927	0.000
Intersección	4312.350	1	4312.35	880.071	0.000
Tratamiento	648.400	6	108.067	22.054	0.000
Días	2.364	3	0.788	0.161	0.922
Tratamiento *					
Días	1.086	18	0.06	0.012	1.000
Error	548.800	112	4.9		
Total	5513.000	140			
Total corregida	1200.650	139			

a. R cuadrado = 0.543 (R cuadrado corregida = 0.433)

En el Cuadro # 11 aparecen los resultados del Análisis de Varianza realizado para las pruebas de cajas petri. Se puede observar que la significancia para los tratamientos es de 0.000 ( $p\text{-value} < 0.05$ ), lo que indica que sí hay diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo se observa que para el factor días la significancia es de 0.922 ( $p\text{-value} > 0.05$ ), lo que implica que no hay ninguna diferencia significativa entre los días. Tampoco hay relación alguna entre los tratamientos y los días (1.000), pues tampoco se alcanza una diferencia estadísticamente significativa. Con estos resultados se observa claramente que sí hay

diferencias entre el tratamiento testigo y los tratamientos a diferentes concentraciones. Se acepta entonces, la hipótesis alterna. Para poder determinar las diferencias entre las medias de los tratamientos se optó por utilizar el Test de Tukey, pues de esta manera se pudo encontrar la dosis ideal para el control de *T. castaneum*.

**Cuadro 12.** Prueba de Tukey de las pruebas realizadas a nivel *in vitro*

Subconjuntos homogéneos

Muerte

DHS de Tukey

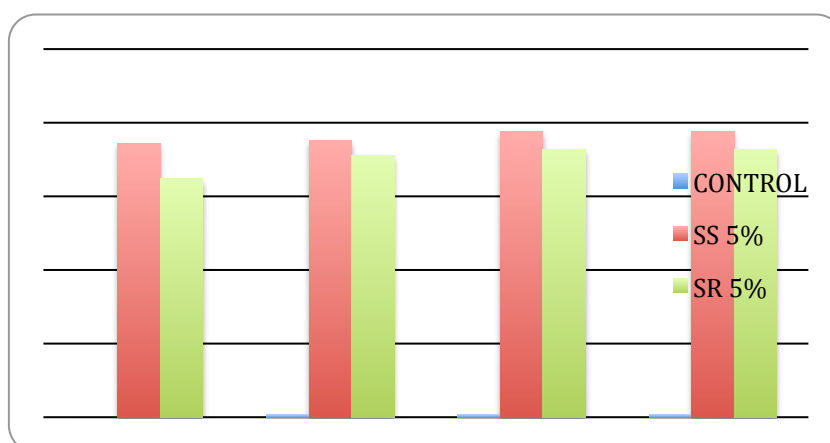
Tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
Control	20	0.80		
SR 2.5%	20		4.55	
SR 10%	20		5.50	5.50
SS 10%	20		6.65	6.65
SR 5%	20			6.75
SS 2.5%	20			7.10
SS 5%	20			7.50
Sig.		1.000	0.050	0.073

El Test de Tukey encontró diferencias significativas entre los tratamientos y el control y los dividió en tres subconjuntos indicando el mejor, según los resultados. En el Cuadro # 12 se muestran los resultados estadísticos de los subconjuntos homogéneos. El subconjunto uno incluye el tratamiento control, con un 0.80, el subconjunto dos incluye los tratamientos SR 2.5%, SR 10% y SS 10%, indicando un grado estadístico de igualdad entre estos tratamientos. Por último el subconjunto tres aglomera los tratamientos SR 10%, SS10%, SR 5%, SS2.5% y SS 5%, siendo este último el mejor debido al resultado de 7.50, mucho mayor que el resultado del control 0.80.

## D. Evaluación a escala mayor. Estadísticas.

**Cuadro 13.** Mortalidad de gorgojos a escala mayor

	24 horas	48 horas	72 horas	1 semana
CONTROL	0	0	0	0
	0	1	1	1
	0	0	0	0
	0	0	0	0
	0	0	0	0
<b>PROMEDIO</b>	<b>0</b>	<b>0.2</b>	<b>0.2</b>	<b>0.2</b>
A2 5%	18	18	19	19
	18	18	18	18
	17	18	20	20
	20	20	20	20
	20	20	20	20
<b>PROMEDIO</b>	<b>18.6</b>	<b>18.8</b>	<b>19.4</b>	<b>19.4</b>
B2 5%	15	17	18	18
	16	18	18	18
	17	18	19	19
	19	19	19	19
	14	17	17	17
<b>PROMEDIO</b>	<b>16.2</b>	<b>17.8</b>	<b>18.2</b>	<b>18.2</b>

**Figura 9.** Mortalidad de gorgojos a escala mayor

En el Cuadro # 13 se observa la mortalidad de los gorgojos en el estudio realizado a escala mayor. Se puede observar los resultados de los dos mejores tratamientos por cada día registrado y un promedio. Se puede observar también una diferencia fuertemente marcada entre el tratamiento testigo y las soluciones. Para el control se tuvo un promedio de 0.8 de cada 10 gorgojos.

El Cuadro # 14 muestra los resultados del ANOVA corrido para las pruebas a mayor escala. Se tuvieron como variables la muerte, los tratamientos y los días de aplicación y se tuvo como resultado una diferencia significativa entre los tratamientos y entre los días (p-value < 0.05), más no en la interacción tratamientos-días (p-value >0.05), lo cual indica que el aceite de la albahaca tiene un mecanismo de muerte por contacto y no por bioacumulación.

**Cuadro 14.** Análisis de varianza de las pruebas realizadas a mayor escala

<b>Pruebas de los efectos inter-sujetos</b>					
Variable dependiente: Muerte					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	44441.733a	11	403.794	440.502	0.000
Intersección	9028.267	1	9028.267	9849.018	0.000
Tratamiento	4425.433	2	2212.717	2413.873	0.000
Días	10.000	3	3.333	3.636	0.019
Tratamiento * Días	6.300	6	1.05	1.145	0.351
Error	44.000	48	0.917		
Total	13514.000	60			
Total corregida	4485.733	59			

a. R cuadrado = 0.990 (R cuadrado corregida = 0.988)

En el Cuadro # 15 se pueden observar los resultados obtenidos al correr la prueba de Tukey. En el Cuadro # 15.1 se observa un p-value <0.05 entre el control con los tratamientos SR 5% y SS 5%, así como un p-value <0.05 entre SS 5% y SR 5%. En el Cuadro # 15.2 se observan los subconjuntos en los cuales separaron los tratamientos, indicando que el menos efectivo fue de nuevo el control, y el más efectivo fue el tratamiento de Sololá, SS 5%.

**Cuadro 15.** Prueba de Tukey de las pruebas realizadas a mayor escala

Subconjuntos homogéneos

Muerte

DHS de Tukey

Tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
Control	20	0.15		
SR 5%	20		17.60	
SS 5%	20			19.05
Sig.		1.000	1.000	1.000

## VIII. DISCUSIÓN

Los aceites esenciales de las plantas deben su actividad insecticida a la presencia de derivados monoterpénicos como el d-limoneno,  $\alpha$ -terpineol,  $\beta$ -myrceno, linalool, cineol, 4-terpineol y timol (Leiva *et al.* 2008). En este trabajo se encontró una fuerte actividad insecticida en el aceite esencial de la albahaca, *O. basilicum*.

Se extrajo el aceite esencial de albahaca morada, *O. basilicum* por medio de la destilación por arrastre con vapor de agua. La extracción duró aproximadamente una hora y se realizó en un equipo de destilación por reflujo (*Kit Corning*). Para la extracción de aceites esenciales este método resulta ser el más apropiado pues se obtiene un producto más puro sin otros componentes que alteren su naturaleza. Se utilizaron las sumidades floridas secas y agua. Un estudio realizado en el Lipronat (2000) indica que para la albahaca es mejor realizar la extracción por arrastre con vapor de agua utilizando el material seco pues se obtienen porcentaje de rendimiento mayores y un producto más puro. Debido a que se tenían dos variedades de albahaca, provenientes de dos lugares diferentes de Guatemala, San Andrés Sololá y Santa Rosa, se obtuvieron dos aceites esenciales. Se utilizaron 800 gramos de cada variedad y se obtuvieron cuatro ml del extracto puro por cada variedad. Se tuvo un porcentaje de rendimiento de 0.475%. Guenther (1949) indica que el porcentaje de rendimiento de la albahaca debe ser de entre 0.5-0.8%, lo cual indica que el método de extracción y las condiciones en las cuales se realizaron las extracciones fueron apropiadas. Debido a que la capacidad de cada equipo de extracción es un poco baja, se tuvieron que utilizar cuatro equipos de destilación y se tuvieron que correr las pruebas dos veces para obtener los cuatro ml necesarios.

Las propiedades organolépticas del aceite esencial fueron percibidas por inhalación nasal. Se percibió un aroma parecido al anís y la menta, muy fuerte pero a la vez agradable. La apariencia del aceite fue de un amarillo pálido, ligeramente transparente. Por ser un aceite esencial se puede determinar su solubilidad en alcoholes y otros aceites, mas no en agua, pues al obtener el destilado, se observaron dos capas en el bulbo, la capa superior pertenecía al aceite y la capa inferior al agua. El extracto se guardó en frascos color ámbar. Los productos naturales obtenidos por

destilación, son sustancias volátiles que se oxidan por exposición al aire. Se recomienda utilizar frascos ámbar, pues los aceites son termolábiles y se degradan con la luz exterior.

En su estructura abundan sustancias terpenoides y sus derivados, es decir, hidrocarburos derivados del isopreno. Las sustancias terpenoides pueden ser monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesteterepenos y triterpenos. Antes se creía que solamente un compuesto era el responsable de la actividad biológica, sin embargo, ahora se sabe con certeza que pueden ser uno o varios los constituyentes que actúan sinérgicamente para proveer el efecto biológico (Solís *et al.* 2004). A los componentes que se les atribuyen las propiedades biológicas se les conoce como principios activos. La determinación cualitativa de los principales grupos químicos presentes se realizó por medio del método de cromatografía de gas acoplado a la espectrometría de masas (GC/MS por sus siglas en inglés). El análisis cromatográfico se realizó en una columna capilar de fenil metil siloxano al 5% (marca Agilent 19091S-433E HP-5MS). Se colocó un  $\mu\text{l}$  del aceite en el inyector y se trabajó bajo las siguientes condiciones:

Horno: la temperatura inicial fue de 50° C a un tiempo inicial de 5 minutos. La temperatura máxima fue de 325° C con un tiempo de equilibración de 2 minutos. El flujo se mantuvo constante a 0.5 ml/min. La primera rampa tuvo un rango de 3 con una temperatura final de 150° C, la segunda con un rango de 10 y una temperatura final de 250° C y la tercera se mantuvo apagada. La velocidad promedio fue de 26 cm/seg.

Inyector: se utilizó en modo splits a una temperatura inicial de 250° C y a presión de 1.04 psi. El ratio del splits fue de 5:1, el flujo fue de 2.5 ml/min para obtener un flujo total de 6 ml/min. El gas portador utilizado fue helio.

Columna: Agilent 19091S-433E HP-5MS (5% fenil metil siloxano) de 30 metros de largo, diámetro de 25 mm y un grosor de la película de 0.25  $\mu\text{m}$ .

Detector de masas: no se indicó el tipo de detector de masas. Únicamente aparece el rango de masas, que va de 10 a 500 UMA (unidades de masa atómica).

Temperatura del espectro de masas: la temperatura de la fuente fue de 230° C y 150° C para el cuádruplo. El tiempo total de corrida fue de 53.33 minutos. Las condiciones se mantuvieron iguales para ambas variedades de albahaca.

Los compuestos se identificaron automáticamente por comparación de los espectros de masas con los estándares registrados en las librerías del sistema. Se obtuvieron cromatogramas correspondientes a los compuestos según iban saliendo (tiempos de retención). Estos cromatogramas se pueden apreciar en los anexos. También se obtuvieron los espectros de masa del eucaliptol y linalool para observar y comparar los espectros teóricos con los prácticos. Los compuestos más importantes que se determinaron fueron:  $\alpha$ -terpineno, p-cimeno, 1,8-cineol, linalool, estragol, alcanfor, trans-menth-2-en-1-ol, acetato de bornilo, 4-terpineol, terpinen1-ol, mentol,  $\alpha$ -Terpineol, borneol, eucaliptol, eugenol, germacreno, cariofileno, spatulenol, 1-penten-3-ol, 3 metil-3-buten-1-ol, 3-hexenol, ciclohexanol, hexanal, naftaleno epi biciclofelandreno, metil-2-metilbutirato, 3-hidroxy-2-butanona, 6-metil-5-heptanona, ácido butanoico, ácido octanoico, ácido decanoico, ácido cloropropiónico, benzaldehído, metil benzoato, fenil acetaldehído, alcohol bencílico, cinamato, metil cinamato, alcohol  $\alpha$ -dimetilfenil etílico. A pesar de que no se determinó cuantitativamente los porcentajes de los principales componentes obtenidos, varios estudios indican que el linalool es el componente mayoritario con porcentajes superiores al 50% (Lipronat 2000; López *et al.* 2008). De igual forma en los cromatogramas se puede apreciar un área bajo la curva mucho mayor para el linalool que para los demás componentes. El  $\alpha$ -terpineol, alcanfor y eugenol se encuentran también como componentes secundarios mayoritarios. Al comparar los espectros teóricos y prácticos del linalool se comprobó la presencia de dicho componente. Estudios previos realizados con albahaca (Lipronat 2000) han determinado la presencia de alcaloides, taninos y saponinas por medio de pruebas de tamizaje fitoquímico.

Ya con el aceite esencial extraído se realizaron las soluciones para poder realizar el diseño experimental. De cada aceite se elaboraron tres soluciones a diferentes concentraciones. Las concentraciones fueron 10%, 5% y 2.5%. Se tomó un ml del

aceite esencial y se diluyó en 9 ml de acetona-agua (5:4) para obtener 10 ml de la primera solución (10%). La Sociedad Americana de Entomología recomienda el uso de la acetona como disolvente universal. De la solución al 10%, se obtuvo una segunda (5%), diluyendo 5 ml de la mx1 en 5 ml de agua . De la solución al 5% se obtuvo una tercera solución (2.5%), diluyendo 5 ml de la mx2 en 5 ml de agua. Se realizó este proceso para cada aceite esencial. De esta forma se obtuvieron seis soluciones de los aceites esenciales a tres diferentes concentraciones. Es importante mencionar que antes de hacer las diluciones se agitó constantemente la mezcla, pues el aceite, al tener una densidad inferior a la del agua, tiende a formar una capa superior. Por ello se debía agitar constantemente para homogenizar la mezcla y a la hora de hacer las diluciones no se fuera todo el aceite a las concentraciones menores. Ya con las seis diluciones preparadas, se les añadió a cada una, el 1% de jabón potásico para mejorar la penetración del aceite. El aceite funciona como método de contacto con el insecto, por lo que se debe agregar algún solvente que rompa las cadenas de quitina propias de los insectos para facilitar que el aceite pueda penetrar y actuar como insecticida. Por ello se escogió el jabón potásico, pues es el más utilizado en métodos de control de plagas. Es importante mencionar que el éxito de la aplicación de un insecticida no es fácil, hay que tomar en cuenta la forma más adecuada de aplicarlo y en el momento oportuno. Asimismo hay que tomar en cuenta los conocimientos técnicos, experiencia local y criterio personal para el control de plagas. Se dice que el mejor insecticida es el que mata en forma inmediata a la plaga (efecto de knock out), pero también debe ser el que menor incidencia tenga en la salud del grano y del ser humano.

Para la preparación del diseño experimental se tuvieron que reproducir en laboratorio poblaciones de *Tribolium castaneum*. Se realizaron colectas en Aprovechamiento, Escuintla, de granos infestados de gorgojos y se llevaron a laboratorio. Ahí se tamizaron los granos y se separaron las larvas y los adultos. Los adultos se colocaron en un contenedor con granos y se esperó a que se reprodujeran de nuevo, pues lo que interesaba eran los nuevos adultos en edades estandarizadas. Los contenedores de plástico tenían gasa en la parte superior para que los gorgojos y el grano pudieran respirar. Los recipientes se colocaron en un cuarto bajo condiciones ambientales controladas (25-30° C). Es importante proporcionar y controlar las condiciones ambientales para favorecer en gran medida el desarrollo de los insectos. Los factores

de mayor importancia que hay que controlar son la temperatura, humedad, fotoperiodo y ventilación. Los insectos producidos en un laboratorio deben conservar todas las características para que cuando se empleen, puedan comportarse como los insectos silvestres. Se esperó aproximadamente 4 semanas para que los adultos se desarrollaran y se escogieron los individuos que se desarrollaron en un período similar. Se escogieron 650 gorgojos, 350 para la parte *in vitro* y 300 para la parte a mayor escala. Robertson *et al* (1984) considera que para obtener una estimación confiable en una regresión dosis-mortalidad se requiere de una muestra con un mínimo de 120 individuos y, una muestra de 240 organismos o más aumenta considerablemente la precisión.

Se han realizado varios estudios para evaluar la susceptibilidad de coleópteros bajo diferentes tratamientos de insecticidas. Por ejemplo, Champ y Campbell-Brown (1970) realizaron un trabajo comparando la respuesta de *T. castaneum* en aplicación tópica y con un método residual con papel filtro. Se analizó heterogeneidad de la respuesta, sensibilidad del método y reproductibilidad y se llegó a la conclusión que el uso de papel filtro impregnado era más práctico, por lo que se consideró mejor candidato para ser utilizado como método estándar. La FAO, a partir de dicho ensayo, propone un método estándar para detectar la resistencia en coleópteros plaga de granos almacenados con malatión y lindano. En ese bioensayo se trata papel filtro con 0.5 ml de la solución insecticida, la cual se añade con una pipeta en movimientos circulares. Posteriormente se deja secar el papel impregnado por un minuto y se deja en reposo durante toda la noche sobre una lámina de vidrio. Los insectos se distribuyen de modo aleatorio sobre los papeles filtro y son rodeados por un anillo de cobre. Después de seis horas de exposición se examinan los insectos y se determina el número que responden. El criterio de respuesta es el derribo, definido como incapacidad para sostenerse y caminar. Para este estudio se colocaron diez gorgojos en *cajas petri* con granos. La diferencia yace en que no se utilizó papel filtro, pues al ser un insecticida de contacto, el aceite tiene que penetrar directamente las paredes de quitina del insecto para que su efecto sea eficaz. El ensayo consistió en una sola aplicación de la solución en spray sobre la superficie de los gorgojos. Se utilizó una caja petri por cada diez individuos obteniendo un total de 35 cajas petri y 350 gorgojos. Se tomaron datos a las 24, 48, 72 horas y a la semana luego de la primera aplicación. El diseño experimental constó de los siguientes componentes: los gorgojos

formaron la población y las cajas petri las unidades experimentales. Se utilizaron 35 cajas petri con 10 individuos por cada una. La variable respuesta fue la muerte de los gorgojos (método propuesto por la FAO) y los tratamientos fueron las seis concentraciones del aceite esencial más un tratamiento testigo. Para reducir el error experimental se repitieron las pruebas cinco veces (5 repeticiones por tratamiento) y se realizaron de forma aleatoria. Se verificó la variable respuesta cada 24, 48, 72 horas y a una semana de la primera aplicación. Se seleccionaron los dos tratamientos más efectivos para el control de gorgojos a mayor escala. El objetivo de crear un diseño experimental es poder comparar estadísticamente los efectos de los tratamientos en el grupo selecto de individuos. La variable respuesta para esta fase fue la muerte de los individuos. Este estudio comprendió tres factores, la muerte, los días y los tratamientos. Se corrió un análisis de varianza de tres factores. La variable dependiente en este caso fue la muerte y las variables independientes fueron los tratamientos y los días. En el Cuadro 11 se pueden apreciar los resultados de la prueba de ANOVA. Se puede observar que los tratamientos tuvieron un p-value de 0.000 ( $<0.05$ ). Esto significa que sí se encuentran diferencias significativas entre los siete tratamientos analizados. El grado de significancia que tuvo el factor días fue de 0.922 ( $>0.05$ ), lo cual implica que no hay diferencia significativa entre los días. Esto es claro, pues el aceite esencial actúa como método de contacto, por lo que media vez penetra el aceite en la dermis del insecto, la muerte es inmediata. Se acepta por consiguiente la hipótesis alterna, que indica que sí hay diferencias significativas por lo menos a una concentración del aceite esencial. Aceptada la hipótesis alterna, se procedió a correr un test de Tukey para determinar qué solución era la que mayor actividad insecticida presentaba. Los resultados del cuadro 12 indican que todos los tratamientos difieren del control (p-value = 0.000). Esto se puede apreciar en la primera fila del Cuadro 12. Aparecen también apareados todos los tratamientos entre sí. Por ello, Tukey obtiene un segundo cuadro con subconjuntos homogéneos, en el cual divide en tres grupos los siete tratamientos. En el primer grupo aparece el tratamiento testigo, con un valor de 0.80. El segundo grupo muestra los tratamientos SR 2.5%, SR 10% y SS 10%, con un valor de 4.55, 5.50 y 6.65, respectivamente. El tercer grupo aglomera los tratamientos SR 10%, SS 10%, SR 5%, SS 2.5% y SS 5% con valores de 5.50, 6.65, 6.75, 7.10 y 7.50, respectivamente. Un valor más alto indica una mayor eficacia en cuanto a la actividad biológica, por lo que se puede determinar que los tratamientos SS 5% y SR 5% fueron los mejores tratamientos en cuanto a

eficacia. Por ende, se escogieron ambos tratamientos para la siguiente prueba.

Generalmente el grano es depositado en costales o sacos, los cuales constituyen la unidad experimental. Estudios analizados por el Dr. Javier Trujillo, Director del Instituto de Fitosanidad de México (2001), indican que el experimento debe estar diseñado de tal manera que se tome en cuenta el ciclo de vida y comportamiento de la plaga, y el método utilizado especificando tamaños de muestra y método de muestreo. Para este estudio se utilizaron botes de plástico con capacidad de tres litros. Según la NOM-032-FITO-1995 si la unidad experimental es de un kg, se deben agregar diez insectos y si es mayor, se depositará un máximo de 50 individuos. El sustrato fue un kg de trigo limpio. Para el diseño experimental se realizó una infestación artificial del grano con veinte gorgojos para cada unidad experimental. El grano infestado se depositó sobre el suelo y se revolvió con palas limpias para evitar que los gorgojos se quedaran en el fondo. Se rociaron las soluciones en las paredes de los botes de plástico. De igual forma se aplicó la solución insecticida sobre el grano depositado en el suelo y se colocó de nuevo en los botes. La aplicación se realizó de primero con el testigo, para luego aplicar las dos soluciones que mejores resultados obtuvieron en la parte de laboratorio. Para cada tratamiento se realizaron cinco repeticiones, obteniendo un total de dos tratamientos más el tratamiento testigo y quince repeticiones. La humedad del grano no debe sobrepasar el 15% pues ayuda a la proliferación de hongos y microorganismos. Por ello, al tener un kg de grano no se podía sobrepasar del 0.5% del producto para no aumentar la humedad del grano. La dosis entonces fue de 5 ml de la solución por kilogramo de grano. Se verificó la variable respuesta se hizo a las 24, 48, 72 horas y a una semana de la primera aplicación de la solución insecticida. La variable respuesta que se analizó fue el número de individuos muertos dentro de cada unidad experimental. Para esta prueba también se trabajaron tres factores, la muerte, los días y los tratamientos. Se corrió de nuevo un análisis de varianza de tres factores, siendo la variable dependiente la muerte y las variables independientes los tratamientos y los días. En el Cuadro 14 se muestran los resultados del ANOVA. En el caso de los tratamientos se encontró un grado de significancia de 0.000 ( $p\text{-value} < 0.05$ ). En el caso de los días también se encontró una diferencia significativa de 0.019 ( $p\text{-value} < 0.05$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos y días ( $0.351 > 0.005$ ), concluyendo de nuevo que el aceite de albahaca actúa por contacto y no por

bioacumulación. En la prueba de Tukey se mostró diferencias significativas entre los tratamientos y el control ( $0.00 < 0.005$ ). Para el caso de los subconjuntos homogéneos, se encontró que Tukey separó como primer grupo al tratamiento testigo, con un valor de 0.15; el segundo grupo lo constituyó el tratamiento SR 5%, con un valor de 17.60, y en el tercer grupo se mantuvo el tratamiento SS 5%, con un valor de 19.05. Con estos resultados se puede concluir que estadísticamente, y a simple vista también, el aceite esencial de Sololá, a una concentración de 5%, posee una actividad insecticida mucho mayor que cualquier otro tratamiento utilizado.

El tratamiento que mejor efectividad tuvo fue el de Sololá al 5%. No pude determinar porqué el tratamiento al 10% no fue tan efectivo como el de 5%. Una hipótesis es que las gotas del aceite al 10% son muy grandes y, a la hora de aplicarlas en spray, se quedaban acumuladas en la pajilla y, por ende, no llegaban al grano. Otra hipótesis es que el aceite al 10% no es lo suficientemente permeable para penetrar la quitina del insecto, mientras que el aceite al 5% sí penetra. Es importante hacer ensayos biológicos que demuestren y comprueben estas hipótesis para futuros análisis.

El modo de acción de un insecticida se puede definir como la respuesta bioquímica y fisiológica de los organismos que está asociada con la acción de los pesticidas. Los insecticidas en general controlan a las plagas de maneras específicas. Existen los famosos insecticidas residuales, los cuales se mantienen activos en cantidades suficientes para matar a las plagas por lo menos por una o varias semanas. Los insecticidas de contacto, por su parte, controlan la plaga al tener contacto directo con ella y se deben de aplicar directamente al insecto. Muy poco residuo se mantiene en la superficie después de rociar un insecticida de contacto. Los insecticidas residuales son los menos recomendados por su alta toxicidad y efectos adversos para la salud humana. Por ello se escogió un complejo que actuara como insecticida de contacto para evitar los residuos tóxicos que contaminan los granos y la salud de humanos y animales. Los insecticidas también se pueden clasificar como tóxicos físicos, venenos protoplásmicos, venenos nerviosos, inhibidores metabólicos, toxinas citolíticas, venenos musculares y agentes alquilantes. Todos éstos intervienen en el bloqueo de algunos procesos metabólicos, sin embargo es difícil determinar el modo de acción de los insecticidas, pues pueden presentar más de un modo de acción (López 2008).

El modo de acción de algunos de los insecticidas químicos sintéticos es inhibiendo la acetilcolinesterasa (AChE) en las uniones sinápticas por fosforilación (en caso de los organofosforados) o carbamilación (en caso de los carbamatos), cerca o en su centro activo (López 2008). Por su parte, los tratamientos con aceites esenciales o sus compuestos aislados pueden causar síntomas que señalan un modo de acción neurotóxico, incluyendo hiperactividad, convulsiones y temblores seguido por parálisis (knock out). López *et al.* (2008) propone que los aceites esenciales, al ser compuestos hidrofóbicos, incitan la desactivación de proteínas y la inhibición enzimática, y debido a que la acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima particularmente susceptible a la inhibición hidrofóbica, es posible que el mecanismo de acción de los compuestos naturales sea por esta vía. En insectos, cuando la acetilcolinesterasa es inhibida, las concentraciones sinápticas aumentan y ocurre una hiperexcitación del sistema nervioso central, donde están ubicadas virtualmente todas las sinapsis colinérgicas (Bloomquist 1999). En estudios realizados con monoterpenoides se estableció que tanto el linalool como el estragol son fuertes inhibidores de la acetilcolinesterasa. El porcentaje de inhibición es bajo en un principio, pero luego aumenta considerablemente. Es posible que, el hecho que los gorgojos no se hayan muerto durante las primeras 24 horas se deba a este fenómeno.

## IX. CONCLUSIONES

En Guatemala existe muy poca información acerca del control de plagas orgánico en los granos almacenados. La contaminación actual de los granos por productos químicos es un tema de mucha preocupación. Se debe tomar en cuenta que los granos son alimentos que de manera directa o indirectamente son destinados a seres humanos y animales. Una forma de evitar la contaminación por dichos productos es utilizando métodos alternos para el control de plagas. El objetivo general de este trabajo fue evaluar la actividad insecticida de seis soluciones del aceite esencial de la albahaca sobre poblaciones del gorgojo castaño de la harina, *T. castaneum*. Tras correr pruebas de análisis de varianza y un test de Tukey se comprobó la actividad insecticida del aceite esencial sobre *T. castaneum*.

La extracción del aceite esencial de las sumidades florales de *O. basilicum* por medio de la técnica de destilación por arrastre con vapor de agua fue exitosa, obteniendo 4 ml de aceite de cada una de las variedades de albahaca y con un % de rendimiento de 0.475%.

Por medio del método de cromatografía de gases con un espectrómetro de masas acoplado (GC/MS) se logró determinar el perfil químico de los componentes del aceite esencial de la albahaca, siendo los más importantes el linalool, estragol, eugenol, alcanfor, borneol, eucaliptol, entre otros.

En las pruebas realizadas en cajas petri, se encontró diferencia significativa ( $p\text{-value} = 0.00 < 0.05$ ) entre los tratamientos, más no entre días de aplicación, concluyendo que el aceite esencial es un método de contacto, pues se observó que casi no existe diferencia entre las muertes a las 24 horas y las posteriores. De estas pruebas se escogieron los tratamientos SS 5% y SR 5%, Sololá y Santa Rosa respectivamente, pues fueron los que mejores resultados obtuvieron utilizando el test de Tukey (7.50 y 6.75 respectivamente).

Para las pruebas realizadas en silos de un kg de trigo se encontró diferencias

significativas entre el control y los tratamientos ( $p\text{-value} = 0.000 < 0.05$ ). En los subconjuntos homogéneos de Tukey se encontró que la solución correspondiente a Sololá, SS 5% fue la que presentó mayor efectividad en el control de los gorgojos, con un valor de 19.05 con respecto a la solución de Santa Rosa SR 5%, con un valor de 17.60.

## X. RECOMENDACIONES

No se sabe con exactitud qué compuesto es el responsable de la actividad insecticida, por lo que se recomienda realizar estudios propiamente químicos para identificar el compuesto responsable de controlar las poblaciones de gorgojos en granos almacenados. De igual forma, es importante tomar en cuenta el efecto del aceite esencial sobre el grano, por lo que se recomienda también, realizar análisis post aplicación del grano para verificar el grado de humedad y valor alimenticio.

Se recomienda que se investigue la estructura de los componentes específicos de los principios activos que se encontraron en el aceite esencial. Esto permite investigar el posible aislamiento de compuestos específicos que presenten la actividad insecticida de la albahaca.

Asimismo se recomienda realizar estudios comparando todas las épocas climáticas, pues el % de rendimiento de extracción y composición de los aceites esenciales de la albahaca varían entre cada estación.

Se recomienda investigar el porcentaje de rendimiento de extracción, la composición química y la actividad insecticida de la albahaca nativa de Guatemala. Las especies nativas pueden representar un potencial económico ya que el cultivo se ve favorecido por el propio clima en que se ha desarrollado y puede presentar un mayor % de rendimiento del aceite y por ende una actividad biológica más potente.

## VII. LITERATURA CITADA

- Anderson, David R; D. Sweeney y T. Williams. 2005. *Estadística para administración y economía*. 8<sup>a</sup> ed. International Thomson Editores S. A de C.V. México. 884 pp.
- Andrews, Keith. 1984. *Manual de Agroforestería*. Vol II. CATIE. 587 pp.
- Bautista, Néstor y O. Díaz. 2001. *Bases para realizar estudios de efectividad biológica de plaguicidas*. Colegio de postgraduados. Grupo Editorial Sagitario. México. 148 pp.
- Cáceres, Armando. 2009. *Vademécum nacional de plantas medicinales de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 205 pp.
- Castillo, Álvaro. 1984. *Almacenamiento de granos*. Aspectos técnicos y económicos. 2<sup>da</sup> ed. Estudios y diseños agroindustriales Ltda. Talleres de Editorial Presencia Ltda. Bogotá, Colombia. 374 pp.
- Cisneros Vera, Fausto. 1976. *Principios de control de plagas*. Parte III. Departamento de sanidad vegetal. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 107 pp.
- Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad CONABIO. 2004. *Cría de insectos plaga y organismos benéficos*. Instituto de Fitosanidad. Grupo Editorial Emmanuel. México. 323 pp.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONCYT. 1997. *VIII Congreso Nacional Manejo Integrado de Plagas*. Memorias AGMIP. Guatemala

10-14 Noviembre. Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología FONACYT.  
172 pp.

- Contreras, M. *et al.* 1984. *Proyecto Manejo Integral de Plagas en Honduras (MIPH)*. El manejo integral de plagas invertebrados en cultivos agronómicos, hortícolas y frutales. EAR-USAID. Honduras. 168 pp.
- Debach, Paul. 1964. *Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas*. Compañía Editorial Continental, S. A., México. 588 pp.
- De Iglesias, Antonio. 1995. *El mundo de los coleópteros*. Editorial Casa de Barcelona. España. 35 pp.
- Dell'Orto, Horacio y C. Arias. 1985. *Insectos que dañan granos y productos almacenados*. Instituto de investigaciones agropecuarias, INIA. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile. 143 pp.
- Doreste, E. 1984. *Acarología*. IICA. San José Costa Rica. 410 pp.
- FAO. 1980. *Control de plagas de plantas y animales*. Manejo y Control de Plagas de Insectos. Academia Nacional de Ciencias. Vol. 3. LIMUSA. México. 522 pp.
- FAO. 2009. *Committee on commodity problems*. Joint meeting of the fourth session of the sub-group on bananas and the fifth session of the sub-group on tropical fruits. Roma 9-11 Diciembre 2009.  
[www.fao.org/docrep/fao/meeting/018/k6854e.pdf](http://www.fao.org/docrep/fao/meeting/018/k6854e.pdf).
- FAO. Sin fecha de publicación. *Manual de fumigación contra insectos*.

Estudio FAO, Producción y Protección Vegetal # 54. Londres, Inglaterra. 413 pp.

- Fundación Defensores de la Naturaleza. 2010. En:  
<http://www.defensores.org.gt/index.php>. No disponible fecha de última actualización.
- Galán Wong, Luis J. *et al.* 1993. *Biotecnología para la producción de bioinsecticidas microbianos centrada en Bacillus thuringiensis*. Graffiti, Ediciones e Impresiones S. A de C. V. México DF. 101 pp.
- Guenther, Ernest. 1955. *The essential oils*. History- Origin in Plants Production Analysis, 1 vol. 3<sup>a</sup> ed. Lancaster Press, INC., Lancaster, PA. Estados Unidos de América. 432 pp.
- Hall, D. W. 1971. *Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales*. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma, Italia. 400 pp.
- Isman, M. 2000. *Plant essential oil for pest and disease management*. Crop Protection. 19: 603-08.
- Kuklinski, Claudia. 2000. *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ediciones Omega, S. A. A & M Gráfico, s.l. Barcelona. 515 pp.
- Lagunes-Tejeda, Angel y M. Vázquez. 1994. *El bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas*. Centro de entomología y acarología. Colegio de postgraduados en ciencias agrícolas. México. 159 pp.

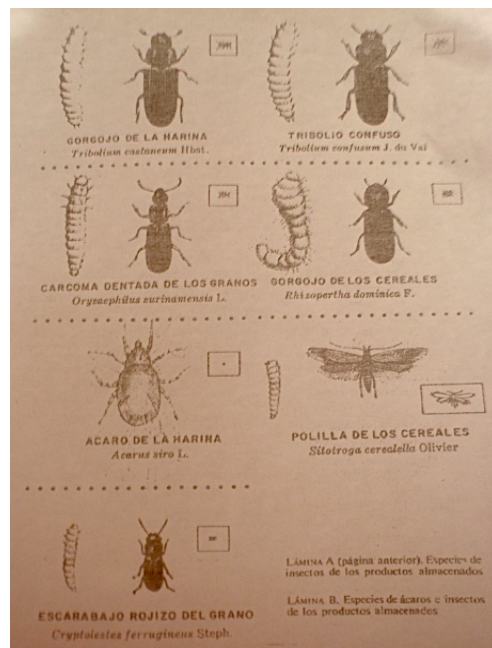
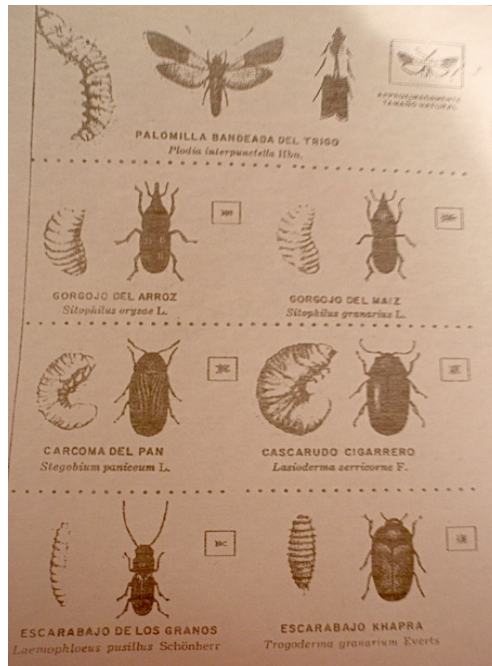
- Lindblad, C. y L. Druben. 1986. *Almacenamiento del grano*. Manejo Secado- Silos. Control de insectos y roedores. 2da ed. Editorial Concepto, S. A. México. 331 pp.
- Mandava, Bhushan. 1985. *Handbook of natural pesticides: Methods*. Volume II: Isolation and Identification. Estados Unidos de América. 465 pp.
- Manners, J. G. 1986. *Introducción a la Fitopatología*. Editorial Limusa. México DF. 295 pp.
- McMurry, John. 2004. *Química Orgánica*. 6<sup>a</sup> ed. Talleres de Litográfica Ingramex, S. A de C. V. México. 1200 pp.
- Nebel, Bernard y R. Wright. 1999. *Ciencias ambientales. Ecología y desarrollo sostenible*. 6ta ed. Prentice Hall, México. 698 pp.
- Sánchez, Antonio. 1990. *Manual práctico de las principales plagas de los productos almacenados*. Dirección General de Sanidad Vegetal. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica. 65 pp.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos SARH. 1981. *Principales plagas de los granos almacenados*. Dirección general de Sanidad vegetal. Talleres gráficos de la Nación. México. 74 pp.
- Sharapin, Nikolai *et al.* 2000. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Convenio Andrés Bello y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). 248 pp.
- Skoog, Douglas *et al.* 2005. *Química Analítica*. 8<sup>a</sup> ed. Impresora y editora

Rodríguez. México DF. 1065 pp.

- Skoog, D F. Holler y S. Crouch. 2008. *Principios de análisis instrumental*. 6<sup>ta</sup> ed. Edamsa Impresiones, S. A de C. V. México DF. 1038 pp.
- Solís, Pablo *et al.* 2004. *Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos*. Proyecto Desarrollo de Tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. Organización de los Estados Americanos. Sao Paulo, Brasil. 132 pp.
- Standley, Paul C y Julian Steyermark. 1946. *Flora of Guatemala*. Fieldiana: Botany, Volumen 24, Parte IV. Museo Natural de Chicago. Estados Unidos de América. 492 pp.
- Steel, R. y H. James. 1985. *Bioestadística: Principios y procedimientos*. 2<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill. Colombia. 622 pp.
- Villa, Joel. 2008. *SPSS: Análisis Estadístico Simplificado*. Wiley Custom Services. Nueva Jersey. Estados Unidos de América. 159 pp.

# XIII. APÉNDICES

## Apéndice A. Principales especies de plagas de granos en la zona tropical y subtropical



## **Apéndice B. Destilación por arrastre de vapor. Procedimiento**

### Parte A

1. Arme el aparato de destilación como se indica la figura.
2. Pesar entre 50-100 gramos del material vegetal para obtener el aceite esencial (hojas, semillas, tallos, raíces, inflorescencias, cáscaras). Colóquelos en un balón de tres bocas de 500 ml.
3. Colocar 400 ml de agua en un balón A y calentar hasta ebullición, manteniéndola hasta que se termine la destilación.
4. Destilar la mezcla hasta obtener entre 150 y 200 ml de destilado. Para interrumpir la destilación, basta suspender el calentamiento del balón A.

### Parte B

1. Pasar el destilado a un embudo de separación de tamaño adecuado y luego agregar 20 ml de éter dietílico.
2. Agitar e invertir el embudo liberando presión varias veces.
3. Dejar reposar hasta la separación clara de las dos capas.
4. Recibir la capa acuosa en el mismo erlenmeyer. No tirarla.
5. Recibir la capa etérea en un beaker limpio y seco. Mantenerlo tapado.
6. Regresar nuevamente la capa acuosa al embudo de decantación.
7. Agregar 10 ml de éter al erlenmeyer vacío, agitar para extraer todo el aceite pegado a las paredes y agregarlo al embudo de decantación, esto se debe hacer dos veces. Tapar, agitar, liberar presión y esperar que se separen las capas. Recibir la capa etérea en el beaker donde se recibió la primera vez.
8. Agregar agente secante, esperar cinco minutos y decantar o filtrar a un balón de tamaño adecuado, limpio, seco y previamente pesado.
9. Remover el éter por destilación simple.
10. Obtener el peso del residuo y calcular el porcentaje de aceite esencial.

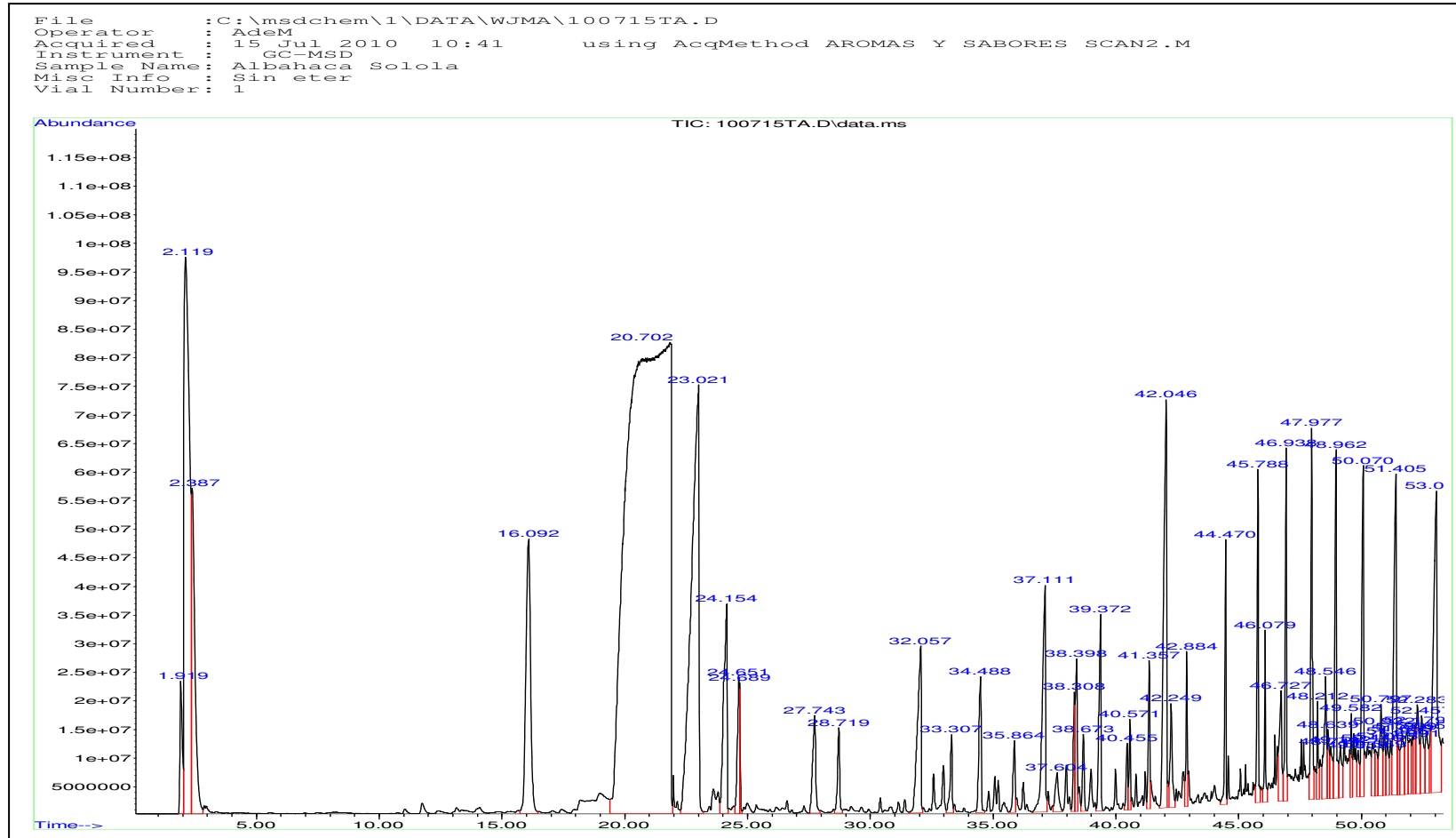
**Apéndice C. Albahaca seca de dos variedades de Guatemala, Sololá y Santa rosa**



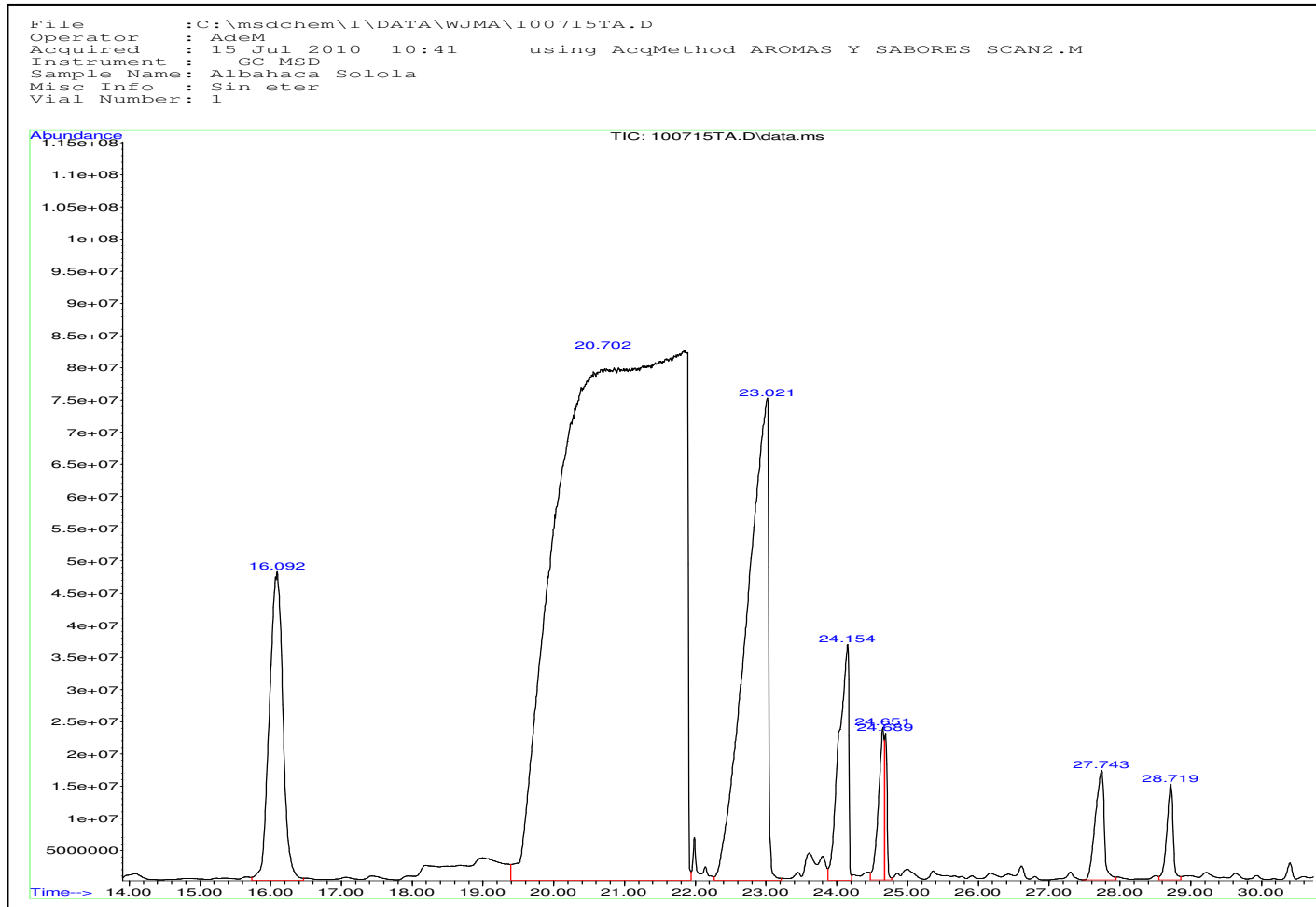
## Apéndice D. Diseño experimental micro y macro



## Apéndice E. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Sololá

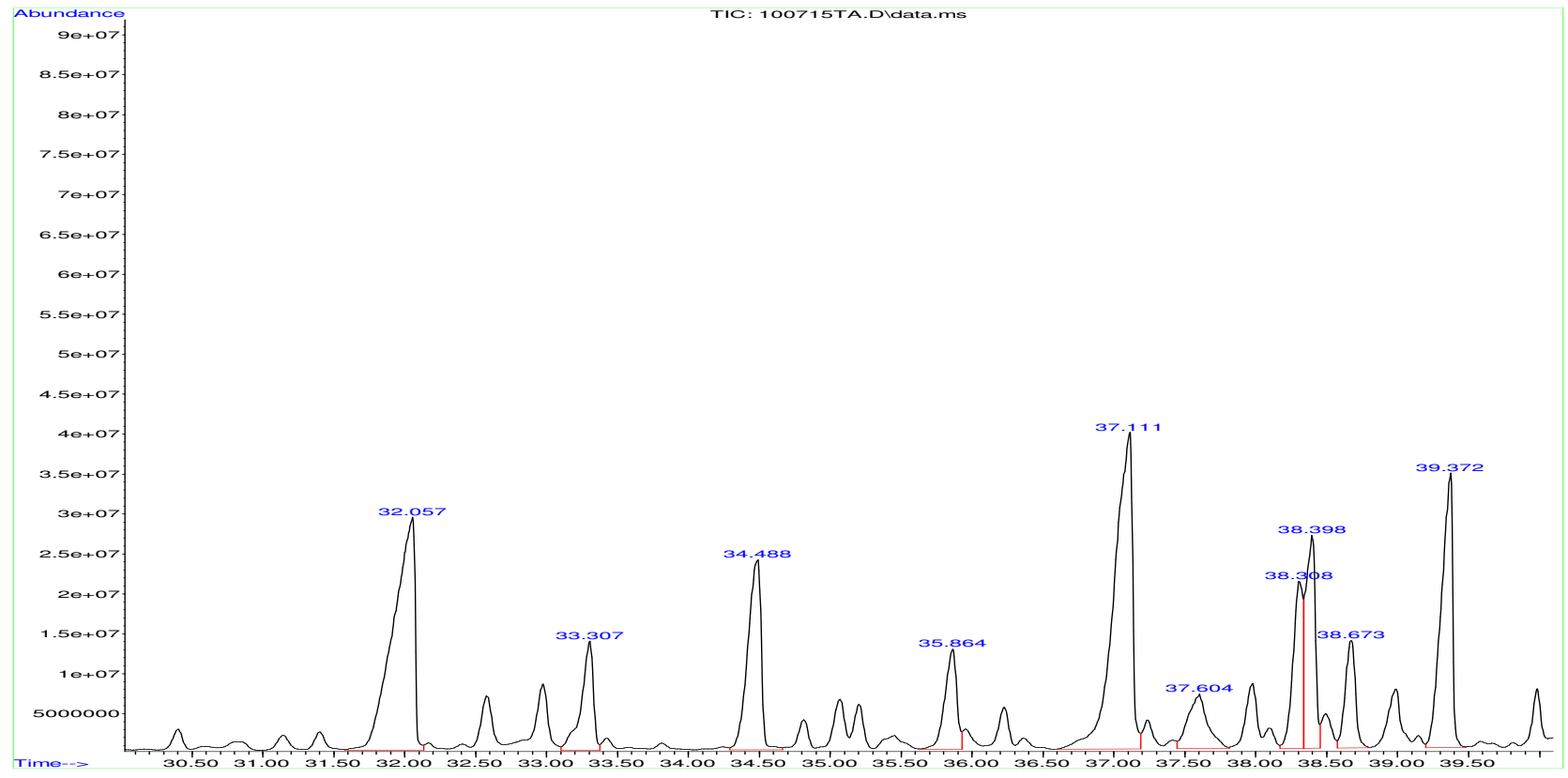


## Apéndice E.1. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Sololá

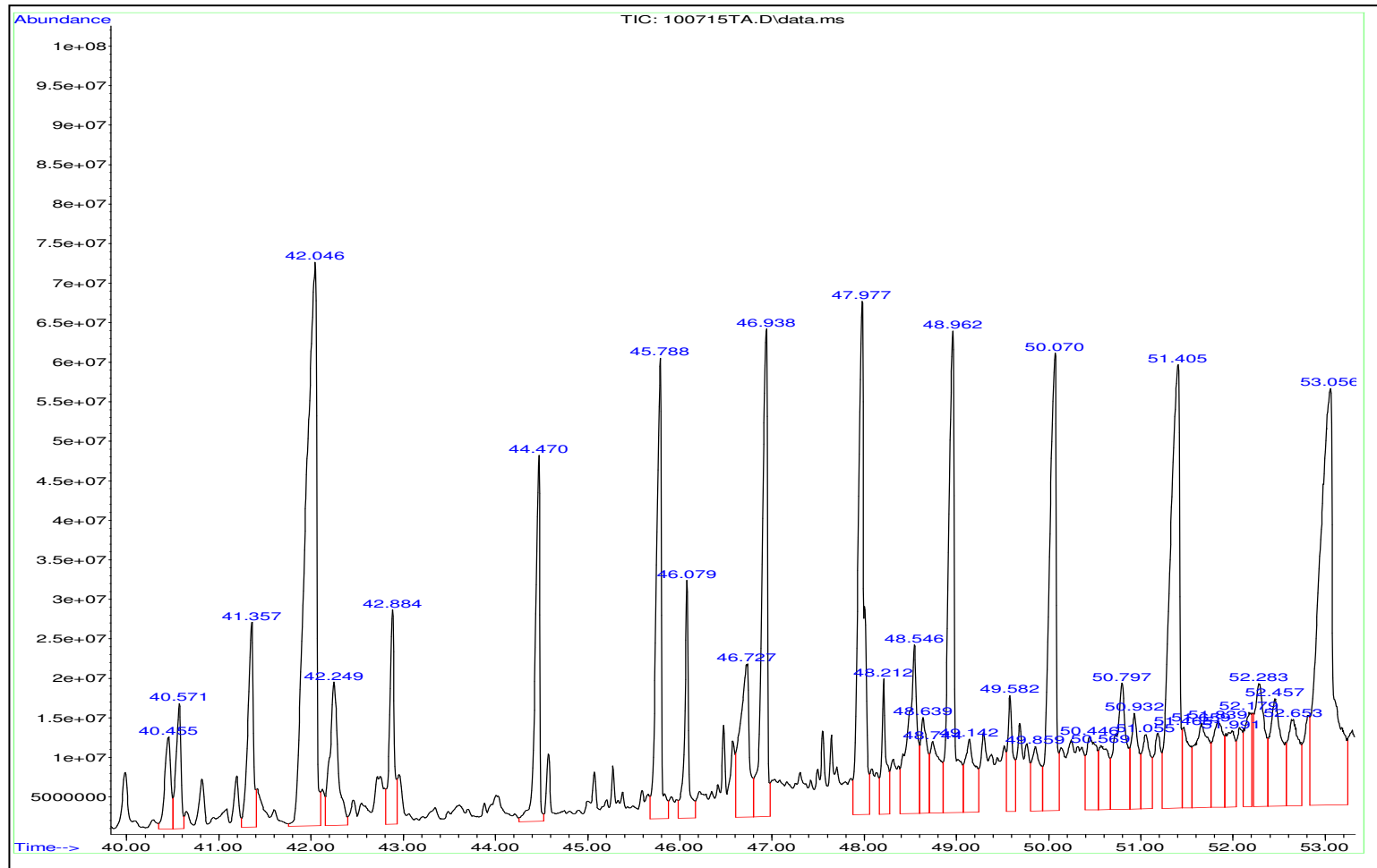


## Apéndice E.2. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Sololá

File : C:\msdchem\1\DATA\WJMA\100715TA.D  
Operator : Adem  
Acquired : 15 Jul 2010 10:41 using AcqMethod AROMAS Y SABORES SCAN2.M  
Instrument : GC-MSD  
Sample Name : Albahaca Solola  
Misc Info : Sin eter  
Vial Number : 1

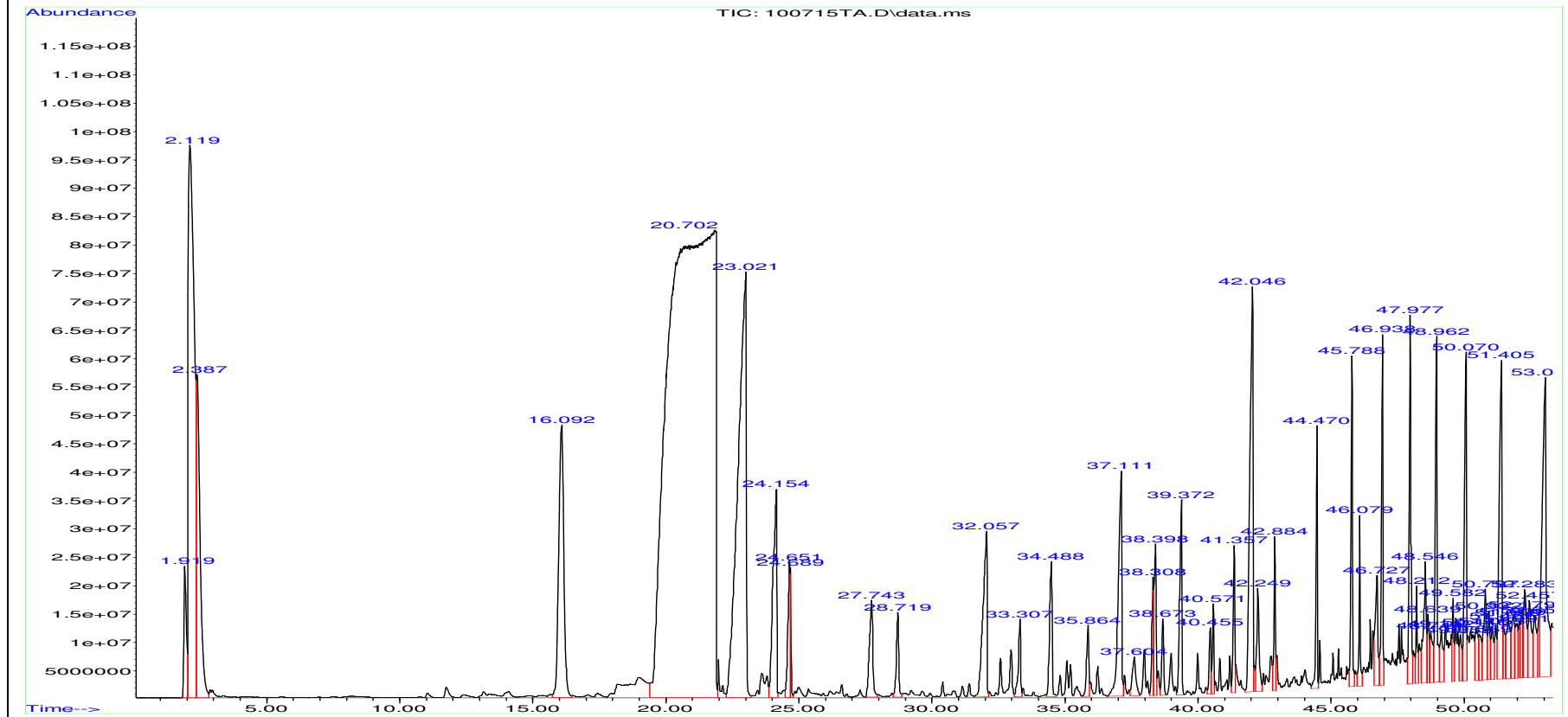


## Apéndice E. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Sololá



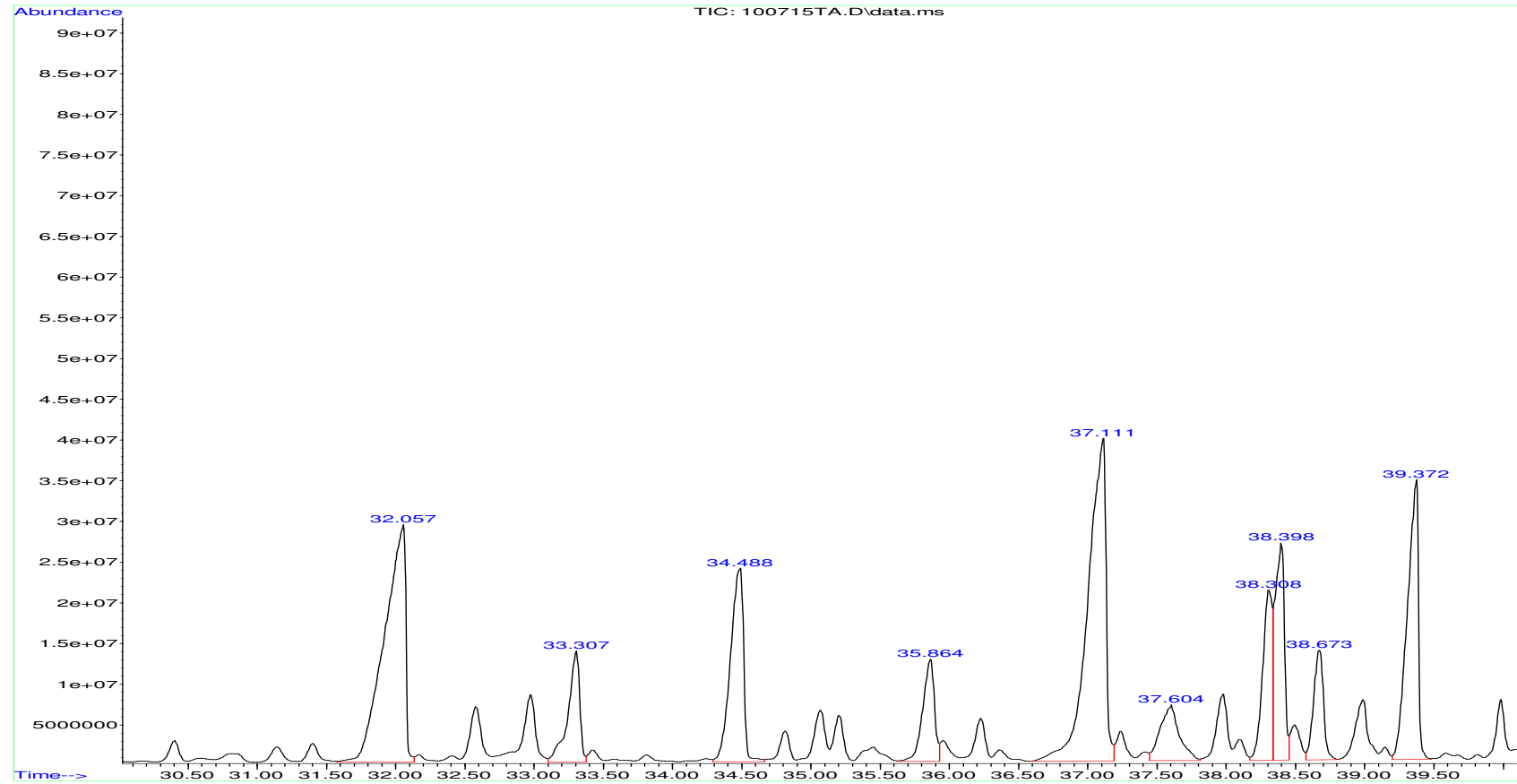
## Apéndice F. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Santa Rosa

File : C:\msdchem\1\DATA\WJMA\100715TA.D  
Operator : AdEM  
Acquired : 15 Jul 2010 10:41 using AcqMethod AROMAS Y SABORES SCAN2.M  
Instrument : GC-MSD  
Sample Name : Albahaca Solola  
Misc Info : Sin eter  
Vial Number : 1



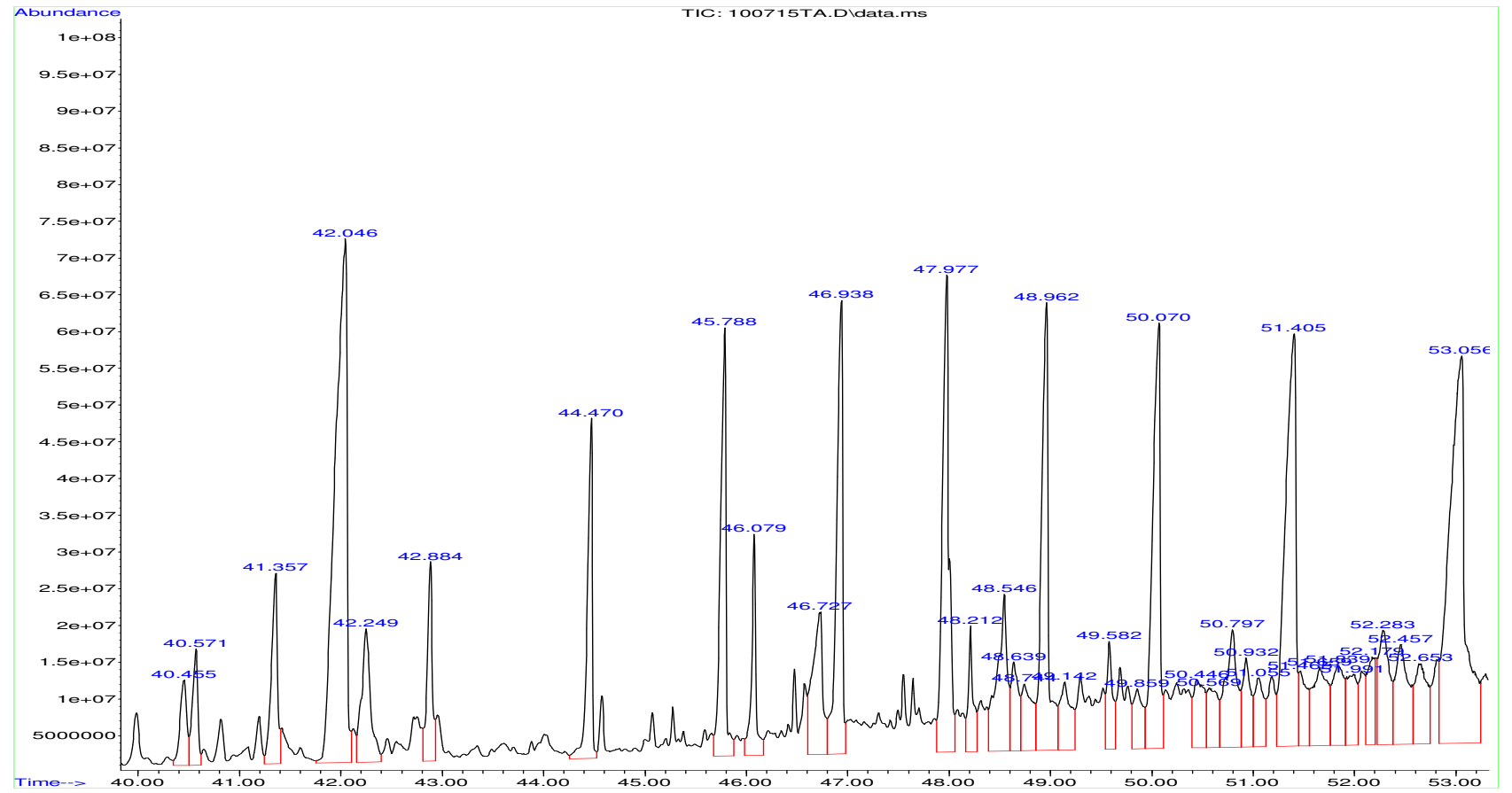
## Apéndice F.1. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Santa Rosa

File : C:\msdchem\1\DATA\WJMA\100715TA.D  
Operator : ADEM  
Acquired : 15 Jul 2010 10:41 using AcqMethod AROMAS Y SABORES SCAN2.M  
Instrument : GC-MSD  
Sample Name : Albahaca Solola  
Misc Info : Sin eter  
Vial Number : 1



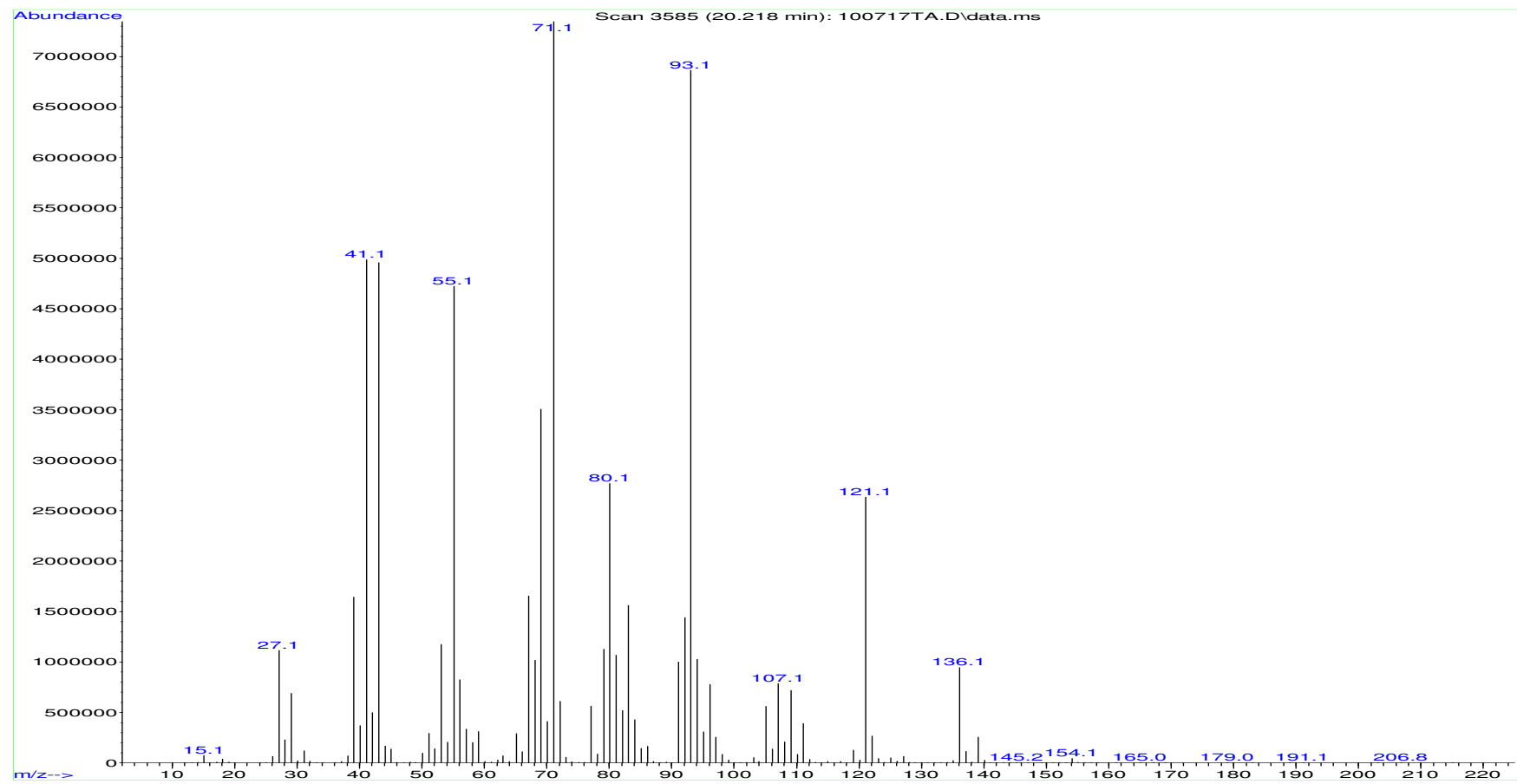
## Apéndice F. Cromatograma del aceite esencial de la albahaca, var. Santa Rosa

File : C:\msdchem\1\DATA\WJMA\100715TA.D  
Operator : Adem  
Acquired : 15 Jul 2010 10:41 using AcqMethod AROMAS Y SABORES SCAN2.M  
Instrument : GC-MSD  
Sample Name : Albahaca Solola  
Misc Info : Sin eter  
Vial Number : 1



## Apéndice G. Espectro de masas del linalool en albahaca var. Santa Rosa

File : C:\msdchem\1\DATA\WJMA\100717TA.D  
Operator : Adem  
Acquired : 15 Jul 2010 12:48 using AcqMethod AROMAS Y SABORES SCAN2.M  
Instrument : GC-MSD  
Sample Name : Albahaca Santa Rosa  
Misc Info : Con eter  
Vial Number : 1



## Apéndice H. Espectro de masas del linalool en albahaca var. Sololá

File : C:\msdchem\1\DATA\WJMA\100715TA.D  
Operator : Adem  
Acquired : 15 Jul 2010 10:41 using AcqMethod AROMAS Y SABORES SCAN2.M  
Instrument : GC-MSD  
Sample Name : Albahaca Solola  
Misc Info : Sin eter  
Vial Number : 1

