

Actividad biológica del aceite esencial de *Tagetes terniflora* Kunth (Asteraceae) en *Tribolium castaneum* Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae)

N. STEFANAZZI, M. M. GUTIERREZ, T. STADLER, N. A. BONINI, A. A. FERRERO

Se evaluó la actividad repelente, toxicidad, efecto fumigante, índices nutricionales y actividad fagodisuasiva del aceite esencial de hojas de *Tagetes terniflora*, en larvas y adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae). La actividad repelente en larvas de 25 días fue evaluada a las 2 y 24 h a las 2 h, la repelencia incrementó a medida que aumentaron las concentraciones. Sin embargo, a las 24 h al 0,4 % (p/v) se observó atracción. El efecto repelente, en adultos aumentó con la concentración. En aplicaciones tópicas, el aceite esencial de *T. terniflora* no resultó tóxico a las concentraciones evaluadas en larvas de 25 días. Con referencia a la actividad fumigante, el aceite no produjo toxicidad ni en larvas ni en adultos de *T. castaneum*. El bioensayo de Índices Nutricionales demostró que el aceite de *T. terniflora* en adultos, redujo la tasa de crecimiento a las concentraciones del 0,4 y 4,0% (p/v), disminuyó la utilización del alimento a las concentraciones de 0,4, 1,0 y 4,0 % (p/v) y se observó un leve efecto fagodisuasivo a la concentración del 2,0 % (p/v). En larvas no se produjo reducción en la tasa de crecimiento, en la tasa de consumo y en la utilización del alimento.

N. STEFANAZZI, M. M. GUTIERREZ, A. A. FERRERO. Laboratorio de Zoología de Invertebrados II, Dpto de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad nacional del Sur, San Juan 670 (8000) Bahía Blanca, Argentina. E-mail: aferrero@uns.edu.ar
T. STADLER. Laboratorio de Investigaciones y Servicios Ambientales Mendoza (LISAMEN). Centro Regional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CRICYT). Av. Ruiz Leal s/n Parque Gral. San Martín. M5502 IRA-Mendoza-Argentina.
N. A. BONINI. Prof Asoc. Qca. Org. I. Fac. de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de Salta. Avda Bolivia 5150 (4400)- Salta. E-mail: bonini@unas.edu.ar

Palabras clave: Asteraceae, *Tagetes terniflora*, *Tribolium castaneum*, efectos repelentes, efectos fumigantes, toxicidad, índices nutricionales y actividad fagodisuasiva.

INTRODUCCIÓN

Los insectos plaga en granos almacenados revisten gran importancia en América Latina debido a que ocasionan pérdidas de hasta el 40%. Dos tercios de estas pérdidas responden a causas bióticas y el tercio restante se produce en la poscosecha. En Argentina, las pérdidas provocadas por plagas de granos almacenados en general, se estiman entre el 7 y el 10% de la producción total (VIALE, 1995).

T. castaneum es una de las plagas clave en grano almacenado en los puertos de Argentina (DESCAMPS *et al.*, 2004), que se controlan casi exclusivamente mediante insecticidas de síntesis en forma intensiva y extensiva (CASAFE, 2004). El resultado de la constante presión con agroquímicos sobre las poblaciones de las diferentes especies ha originado numerosos episodios de fallos en el control a partir de fenómenos de resistencia a plaguicidas (PICOLLO *et al.*, 1985; PICOLLO

et al., 1992; FERRERO, 2002 y STADLER *et al.*, 2003).

El concepto básico para el desarrollo de nuevos insecticidas se ha alejado de los productos de síntesis y orientado hacia productos más seguros, selectivos y ecológicamente aceptables.

Los metabolitos secundarios de las plantas como terpenos, flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos y los aceites esenciales son insecticidas bioracionales efectivos, cuyo potencial aún no ha sido aprovechado por completo (PASCUAL-VILLALOBOS y ROBLEDO, 1999; NOVO *et al.*, 1997; STEFANAZZI *et al.*, 2004). Además de su actividad insecticida, estas sustancias también presentan efectos subletales como repelencia, efectos antialimentarios, efectos sobre la tasa de fertilidad, fecundidad e inhibición del crecimiento en poblaciones de insectos. Varios son los ejemplos en la literatura sobre la evaluación de sustancias vegetales y su empleo como alternativas para el control de las distintas plagas de granos almacenados (ALONSO AMELOT *et al.*, 2003; TALUKDER y HOWSE, 1994; OWUSU, 2000; SHAAYA *et al.*, 1991; HO *et al.*, 1996; LEE *et al.*, 2004; TAPONDJOU *et al.*, 2005)

El género *Tagetes* (Asteraceae) es originario de Sudamérica, pero actualmente posee una distribución cosmopolita y representa uno de los grupos más ricos en formas de las angiospermas. *Tagetes* spp. es de importancia económica e incluye especies de plantas comestibles y ornamentales. Los extractos de las especies de este género se caracterizan por su actividad insecticida y nematocida, además de sus aplicaciones farmacéuticas (VASUDEVAN *et al.*, 1997), siendo *T. minuta*, *T. erecta*, *T. patula* y *T. terniflora* las especies mejor conocidas. *T. minuta* es la especie más estudiada y sus extractos contienen principalmente (Z)-tagetona, (Z)- β -ocimeno, dihydrotagetona, (Z)- y (E)-ocimenona como componentes mayoritarios (PICHETTE *et al.*, 2005).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad biológica del aceite esencial de hojas de *T. terniflora* en *T. castaneum*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de *T. terniflora* se colectaron durante la época estival en la Provincia de Salta, Argentina.

Extracción e identificación de los componentes del aceite esencial

El aceite esencial de *T. terniflora* se obtuvo por destilación por arrastre de vapor a partir de hojas frescas y posterior eliminación del agua que pudiera quedar en el mismo por percolación a través de una columna de sulfato de sodio.

El aceite esencial de hojas de *T. terniflora* fue analizado por un cromatógrafo marca SRI 8610C, provisto de una columna capilar Quadrex Corporation de Metil Silicona de 30 metros de largo, diámetro interno: 0,25 mm, espesor de fase estacionario: 0,25 micrones con el siguiente programa de temperatura: temperatura inicial: 50°C, tiempo inicial: 10 minutos, rampa: 2°C/minuto, temperatura final: 200°C, detector: FID, (Flame ionization detector), Carrier: Hidrógeno, presión a la cabeza de la columna: 15 Psi, muestra: dilución 1/100 en acetona, inyección: En columna - 0,5 microlitros. La identificación de los componentes principales se realizó mediante el índice de Kovats y determinación de tiempos de retención empleando dodecano como patrón interno. El análisis cromatográfico, a través de un cromatógrafo gas-líquido (CGL) reveló la presencia de componentes mayoritarios como el cis-ocimeno (27,3%), la cis y trans-tagetona (25,9%) y componentes minoritarios como la cis y trans-ocimenona (17,5%) y la dihidrotagetona (16,8%) (Cuadro 1 y Fig. 1)

Insectos:

Todos los experimentos se realizaron en el laboratorio, utilizando crías sincronizadas de *T. castaneum* originadas a partir de ejemplares sin historia de control químico, obtenidas de la Cátedra de Terapéutica Vegetal de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de la Plata, Argentina (cepa sus-

Cuadro1. Componentes del aceite esencial de hojas frescas de *Tagetes terniflora*.

Tagetes terniflora			
Componente	Retención	Area	%
Solvente	0.016	482.264	0.99
	1.016	241417.503	
	3.066	1071.073	2.2
	5.283	291.442	0.6
	5.983	441.897	0.91
	9.183	123.708	0.25
	9.7	297.5905	0.61
	10.966	100.435	0.21
	11.666	328.2775	0.67
Cis-Ocimeno	13.216	13276.162	27.28
Dihidrotagetona	13.983	8157.685	16.76
	15.966	157.616	0.32
	16.583	483.776	1.00
	20.183	202.5	0.42
Cis + trans tagetona	21.183	12627	25.95
	23.616	136.45	0.28
Cis + trans ocimenona	27.383	8523.15	17.51
	40.4	964.299	1.98
	42.566	162.606	0.33
	44.35	380.3355	0.78
	45.383	218.31	0.45
	47.033	234.134	0.48
		290083.2085	

ceptible U.L.P). Todos los insectos fueron mantenidos en condiciones fijas de temperatura y humedad relativa ambiente (25 ° C y 70 % de humedad relativa) y fotoperíodo 12L:12O. Los ejemplares se alimentaron con una mezcla de trigo, levadura y leche en polvo (13:1:1).

Bioensayos.

Actividad repelente en larvas

Para evaluar el efecto repelente se realizó la prueba de impregnación de dieta. El aceite se mezcló con la dieta en soluciones acetónicas a diferentes concentraciones. El solvente se dejó evaporar durante 48 horas. Cajas de Petri de 9 centímetros de diámetro se dividieron en tres zonas. En una zona, se colocaron 2 gramos de dieta tratada con 2

ml de acetona como control, una zona libre central y otra con 2 gramos de dieta tratada con el aceite. En la zona central se liberaron 10 larvas de 25 días de *T. castaneum*. Después de 2 y 24 h se registró el número de larvas presentes en cada montón de dieta ofrecida. Se calculó el Índice de Repelencia como $IR = (C-T)/(C+T) \times 100$ siendo C= n° de larvas en la zona no tratada o dieta control y T= n° de larvas en la zona tratada o en dieta tratada. Valores positivos de IR indican repelencia y valores negativos atracción (PASCUAL-VILLALOBOS, 1998). Se realizaron al menos tres réplicas. Los datos obtenidos fueron analizados mediante análisis de la varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias (DMS: Diferencias Mínimas Significativa) (ZAR, 1999).

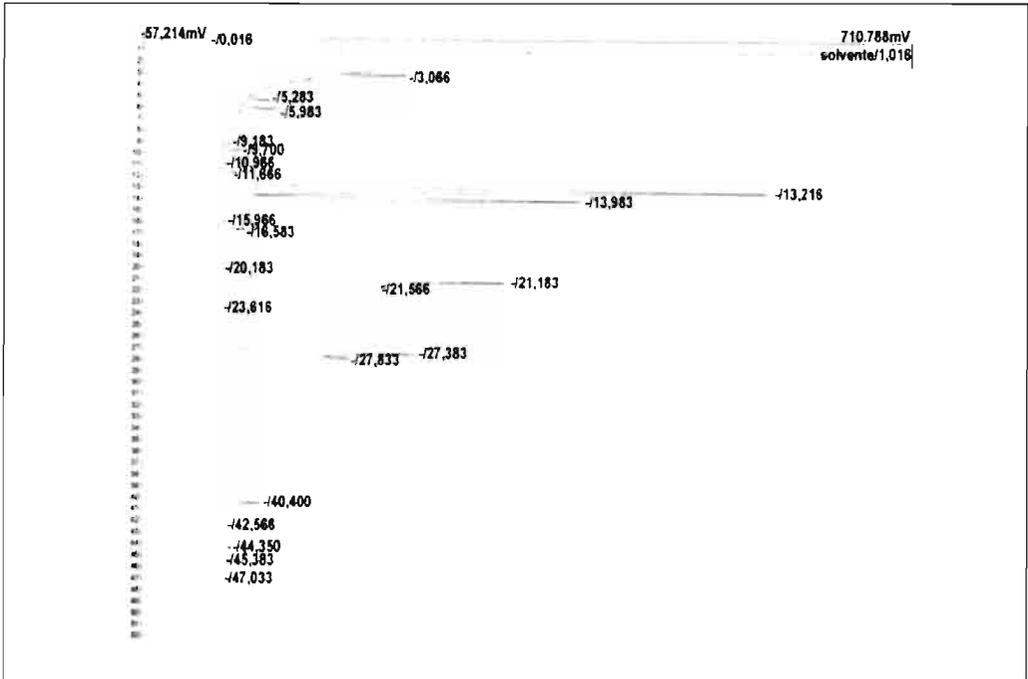


Figura 1. Cromatograma de una muestra de aceite esencial de *Tagetes terniflora*.

Actividad repelente en adultos

Para evaluar el efecto repelente se utilizó una caja central conectada por cilindros plásticos a cuatro cajas distribuidas simétricamente alrededor de la primera. En dos se colocaron 8g de dieta tratada con soluciones acetónicas del aceite esencial de *T. terniflora* a distintas concentraciones y en las dos restantes, se colocaron 8 g de dieta impregnada con 8 ml de acetona (control). En la central se liberaron 40 adultos, no sexados, de *T. castaneum* y la evaluación del ensayo se realizó a las 24 h. Se calculó el Índice de Preferencia como $IP = (\% \text{ de insectos en la dieta tratada}) - (\% \text{ de insectos en dieta no tratada}) / (\% \text{ de insectos en dieta tratada}) + (\% \text{ de insectos en dieta no tratada})$ donde $IP = -1,00$ a $-0,10$ indica planta repelente; $IP = -0,10$ a $+0,10$ planta neutro e $IP = +0,10$ a $+1,00$ planta atrayente (PROCOPIO *et al.*, 2003). Se realizaron al menos tres réplicas.

Aplicaciones tópicas en larvas

Para evaluar la actividad insecticida, se realizaron aplicaciones tópicas a 10 larvas de 25 días con 0,2 ul de soluciones acetónicas del aceite de *T. terniflora* a concentraciones del 0,4% y 4,0 % (p/v), utilizando una microjeringa Hamilton de 10 μ l provista de pulsador (50 pulsos). Como control los insectos se trataron solamente con acetona. Cada experimento se repitió en forma independiente y se evaluó el porcentaje de mortalidad a las 72 horas.

Actividad fumigante en larvas y adultos

Se evaluó la toxicidad fumigante (TRIPATHI *et al.*, 2002) del aceite esencial de *T. terniflora* a diferentes concentraciones. Tiras de papel de filtro de 3 x 4 cm se impregnaron con 100 ul de soluciones hexánicas de dicho aceite o hexano como control. Después de la evaporación del solvente durante 5 minutos, los papeles de filtro tratados se colocaron en

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

Índices nutricionales y actividad fagodisuasiva del aceite esencial en larvas y adultos

Para evaluar el efecto fagodisuasivo se prepararon discos de harina (HUANG *et al.*, 2000). Partes alícuotas de 200 ul de una suspensión de harina en agua (10 g/50 ml) se colocaron en placas de plástico para formar los discos que se dejaron secar en una cámara a 25 °C y 60/70% de HR durante toda la noche. Los discos se pesaron registrándose valores entre 70 y 78 mg. Para determinar el efecto antialimentario del aceite esencial se prepararon soluciones de 0,4, 1,0, 2,0 y 4,0 x 10⁴ ppm en hexano con las que se trataron discos de harina de trigo, que se pesaron y se colocaron en recipientes separados. Se preparó un grupo control con discos sin tratar. En cada recipiente se colocaron 10 insectos previamente pesados en una balanza marca OHAU SAP210S (210 g. x 0,1mg.). Luego

de incubarlos durante 72 horas en condiciones controladas, se registró el peso de los discos, la mortalidad y el peso de los insectos vivos. Se realizaron cinco réplicas. Se calcularon los Índices Nutricionales: Tasa de Crecimiento Relativa (TCR)=(A-B)/(Bxdía) donde A=peso de los insectos vivos al tercer día /n° de insectos vivos al tercer día, B=peso original de los insectos /n° total de insectos; Tasa Relativa de Consumo(TRC)=D/(Bxdía), donde D=biomasa ingerida (mg)/n° de insectos vivos al tercer día; Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido (ECAI)(%)=(TCR/TRC)x100 y el Índice Fagodisuasivo (IF)(%)=[(C-T)/C]x100, donde C=consumo de los discos en el control (mg) y T=consumo de los discos tratados(mg). Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), previa normalización por \sqrt{x} , y prueba de comparación de medias (DMS) (ZAR, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A las 2 h, la repelencia incrementó a medida que aumentaron las concentraciones (Cuadro 2). Sin embargo, a las 24 h, los índices de repelencia fluctuaron en relación a las concentraciones. Así, cuando la concentración evaluada fue del 0,4 % se observó atracción. PASCUAL-VILLABOS y ROBLEDO (1999), utilizando extractos crudos de diferentes especies vegetales, obtuvieron una actividad repelente en las primeras horas, que decreció rápidamente con el tiempo. Una situación similar fue observada por LIU

Cuadro 2. Actividad repelente en larvas de 25 días de *T. castaneum* causada por el aceite esencial de *T. terniflora* a diferentes tiempos y concentraciones por el método de impregnación de dieta.

Concentración % (p/v)	Índice de Repelencia (% ± ES ^a)	
	2 h	24 h
0.4	6.66 ± 0.17 a	-20 ± 0.11 a
1	60 ± 0.23 b	73.3 ± 0.06 b
2	93 ± 0.06 b	86,78 ± 0.06 b
4	93,33 ± 0.06 b	93,33 ± 0.06 b

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

y Ho (1999) al utilizar aceite esencial de *Evodia rutaecarpa* en *Sitophilus zeamais* y *T. castaneum*. La respuesta atrayente podría deberse a la mezcla de la dieta tratada con la dieta control por la actividad propia de las larvas (PASCUAL- VILLALOBOS y ROBLEDO, 1999) o debido al bajo peso molecular y la alta volatilidad de los constituyentes repelentes del aceite esencial de *T. terniflora*. Esto último fue observado por JILANI y SAXENA (1990), evaluando diferentes aceites esenciales en *Rhizopertha dominica*.

Cuando se realizó el análisis estadístico de los datos de la actividad repelente en larvas de 25 días (Cuadro 2), se comprobó que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos efectuados en la dieta a las 2 horas y además existen diferencias significativas entre las concentraciones del 1,0%, 2,0% y 4,0% con la de 0,4% (DMS, $p < 0.05$).

A las 24 horas se comprobó que existen diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre los tratamientos. Además, se comprobó que existen diferencias significativas entre las concentraciones del 1,0%, 2,0% y 4,0% con la de 0,4% (DMS, $p < 0.05$) (Cuadro 2).

Cuando se evaluó la actividad repelente en adultos de *T. castaneum* a través del Índice de Preferencia (IP) se observó que la repelencia aumenta con la concentración, registrándose valores de -0,23 a -0,83 (Cuadro 3) PROCOPPIO *et al.* (2003) utilizando estos mismos índices para la evaluación del efecto repelente de distintos polvos vegetales encontró que *Eucalyptus citriodora* resultó repelente en otra plaga clave de granos almacenados como *Sitophilus zeamais*.

En aplicaciones tópicas, el aceite esencial de *T. terniflora* no resultó tóxico a las concentraciones evaluadas en larvas de 25 días. VASUDEVAN *et al.* (1997), sin embargo, observaron toxicidad en larvas de mosquitos con otras especies de *Tagetes*.

En referencia a la actividad fumigante, el aceite no produjo toxicidad ni en larvas ni en adultos de *T. castaneum*. Esta falta de toxicidad en ambos estados podría deberse a la alta volatilidad de los constituyentes del aceite esencial, a que se requerirían mayores concentraciones para lograr mortalidad, tiempo de exposición más prolongado y a la edad de los ejemplares utilizada. Algunos autores observaron que la susceptibilidad a los productos disminuye en los adultos y a medida que la edad las larvas aumenta (LIU y HO, 1999; HUANG *et al.*, 2000).

Según LIU y HO (1999), los efectos repelentes y antialimentarios de una sustancia volátil, como las que se encuentran presentes en *E. rutaecarpa* son muy difíciles de separar. Sin embargo, mediante el uso de ensayos de no elección esto puede evitarse. En nuestro trabajo el aceite esencial de *T. terniflora* en adultos redujo la TCR a las concentraciones del 0,4 y 4,0%, no observándose reducción de la TRC en ninguna de las concentraciones evaluadas. La utilización del alimento (ECAI) disminuyó a las concentraciones de 0,4, 1,0 y 4,0 %. Además se observó un leve efecto fagodisuasivo a la concentración del 2,0 %. Es posible que la disminución en el crecimiento a las concentraciones mencionadas sea consecuencia de una toxicidad post-ingesta dado que, se produce una reducción en los valo-

Cuadro 3. Actividad repelente en adultos de *T. castaneum* causada por el aceite esencial de *T. terniflora* a diferentes concentraciones por el método de impregnación de dieta.

Concentración (%) (p/v)	Repelencia (%)	Índice de Preferencia ¹⁾ (IP)
0.4	58,22	-0,23
1	90,93	-0,83
2	92,30	-0,84
4	91,97	-0,83

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

Cuadro 4. Actividad fagodisuasiva del aceite esencial de *Tagetes terniflora* en larvas y adultos de *Tribolium castaneum*.

Estado de vida	Concentración (x 10 ⁴ ppm)	TCR ¹ (mg mg ⁻¹ d ⁻¹)	TRC ² (mg mg ⁻¹ d ⁻¹)	ECAI ³ (%)	Mortalidad (%)	IF ⁴ (%)
Adultos	0	0.039 c	0.104 a	40.38 c	0	
	0,4	-0.014 a	0,151 a	-20.54 a	0.6	-46.09
	1	0,018 abc	0,132 a	9.84 b	3.2	-5.80
	2	0.030 bc	0,243 a	19.42 bc	4.4	14,10
	4	-0,0008 ab	0,136 a	-0,66 ab	0.2	-46.66
Larvas	0	0.022 a	0,039 a	49.43 a	0	
	0,4	0.0015 a	0,011 a	-15.77 a	0.4	55.48
	1	0,030 a	0,150 a	18,08 a	1.4	-739.4
	4	0,0042 a	0,038 a	8,69 a	0.2	-254.12

1: Tasa de Crecimiento Relativo; 2: Tasa Relativa de Consumo; 3: Eficiencia de Conversión del Alimento Ingerido; 4: Índice Fagodisuasivo. Distintas letras en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos según ANOVA y DMS.

res de la eficiencia de conversión del alimento ingerido, sin observarse cambios en la tasa de consumo. Los autores anteriormente mencionados obtuvieron una respuesta similar a la de nuestro estudio, a elevadas concentraciones del aceite esencial de *E. rutaecarpa* en *T. castaneum*.

En larvas de *T. castaneum* no se produjo reducción en la TCR, TRC, ECAI (Cuadro 4).

Nuestros estudios indican que el aceite esencial de *T. terniflora* mostró actividad repelente en larvas y adultos de *T. castaneum*., no se observó toxicidad por aplicación tópica en larvas, ni toxicidad fumigante en larvas y adultos y no mostró efecto

antialemtario en los estados evaluados. En consecuencia, *T. terniflora* podría ser utilizada como protector de los granos en programas de manejo integrado de esta plaga.

AGRADECIMIENTOS

Al Ingeniero. N.A. Bonini, por facilitar el cromatograma y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SeCyT) de la Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina, por el subsidio otorgado para el desarrollo del presente estudio.

ABSTRACT

STEFANAZZI N., M. M. GUTIERREZ, T. STADLER, N. A. BONINI, A. A. FERRERO. 2006. Biological activity of essential oil of *Tagetes terniflora* Kunth (Asteraceae) against *Tribolium castaneum* Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 32: 439-447.

Repellent, toxic, fumigant effect, nutritional indices and feeding deterrent activities of the essential oil from *Tagetes terniflora* were evaluated against *Tribolium castaneum* Herbst larvae and adults.

Repellent activity on fifth instars was evaluated at two and twenty four hours. At two hour, repellency increased with concentration. However, at twenty four hours at 0.4%(w/v), the essential oil showed attractancy. On adults, repellency increased with concentration. In topical application and fumigant activity, the essential oil was not found to be toxic to any of the stages evaluated. Bioassays of Nutritional indices showed that the essential oil reduced the growth rate at 0.4% and 4%, food utilisation decreased at 0.4%, 1% and 4% and had no effect on food consumption; at 2% there

was relatively little feeding deterrence action observed on adults. In larvae, the essential oil had no effect on growth rate, food consumption and food utilisation. However, a slight feeding deterrence effect was observed at 0.4%.

Key words: Asteraceae, *Tagetes terniflora*, *Tribolium castaneum*, repellent effects, fumigant toxicity, contact toxicity, nutritional indices and feeding deterrence.

REFERENCIAS

- ALONSO AMELOT, M. E.; AVENDAÑO, M. & AUBERT, L. 2003. Repelencia e inhibición alimentaria causada por *Ageratum Conyzoides* sobre los insectos-plaga de granos almacenados *Tribolium Castaneum* and *Sitophilus Oryzae*. Partes activas de la planta y su composición. *Ciencia*, **11**, 1: 61-76.
- CASAFE. 2004. Guía de productos fitosanitarios para la República Argentina. Ed. CASAFE. Bs As. Argentina. 1600 pp.
- DESCAMPS, L. R.; REVIRIEGO, M. E.; SUAREZ A.A. & FERRERO, A. A. 2004. Reproducción de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) y de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) en cultivares de trigo argentinos. *Bol. San. Veg. Plagas*, **30**: 171-175.
- FERRERO, A. A. 2002. Resistencia a Insecticidas en insectos plaga de grano almacenado. V Congreso Argentino de Entomología. Buenos Aires. 130-131.
- HO, S. H., KOH, L., MA, HUANG, & SIM, K. Y. 1996. The oil of garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Post-harvest Biology and Technology*, **9**: 41-48.
- HUANG, Y.; LAM, S. L. & HO, H. S. 2000. Bioactivities of essential oil from *Elleitaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Product Research*, **36**: 107-117.
- JILANI, G. & SAXENA, R. C. 1990. Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil, and a neem-based insecticide against the lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychidae). *Journal of Economic Entomology*, **83**: 629-634.
- LEE, B. H.; ANNIS, P. C.; TUMAALII, F. & CHOI, W. S. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insect. *Journal of Stored Products Research*, **40**: 553-564.
- LIU, Z. L. & HO, S. H. 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, **35**: 317-328.
- NOVO, R.J.; VIGLIANCO, A. & NASSETTA, M. 1997. Actividad repelente de diferentes extractos vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst). *Agriscientia*, **14**: 31-36.
- OWUSU, E. O. 2000. Effect of some Ghanaian plant components on control of two stored-product insect pests of cereals. *Journal Stored Product Research*, **37**(1): 85-91.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M. 1998. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **24**: 143-154.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. & ROBLEDO, A. 1999. Anti-insect activity of plant extracts from the wild flora in southeastern Spain. *Biochemical Systematic and Ecology*, **27**: 1: 1-10.
- PICHETTE, A.; GARNEAU, F.-X.; COLLIN, G & JEAN, F.-I. 2005. Essential Oils from Bolivia. IV. Compositae: *Tagetes aff. maxima* Kuntze and *Tagetes multiflora* H.B.K. *Journal of Essential Oil Research: JEOR*, **Jan/Feb. 2005**.
- PICOLLO DE VILLAR, M., SECCACINI, E. & ZERBA, E. 1985. Resistencia a malatión en insectos plaga de grano almacenado en la República Argentina. IDIA. Sep-Dic: 59-63.
- PICOLLO, M. I.; FERRERO, SECACCINI, E. & ZERBA, E. 1992. Perfil de toxicidad de insecticidas en cepas susceptibles y resistentes a malatión en *Tribolium castaneum*. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revista Sociedad Entomológica Argentina*, **51**: 1-4.
- PROCOPIO, S.; VENDRAMIN, J.; RIBEIRO, J. & SANTOS, J. 2003. Bioactividade de diversos pós de origen vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae). *Ciencia Agrotecnica*, **27**: 1231-1236.
- SHAAYA, E., RAVID, U., PASTER, N., JUVEN, B., ZISMAN, U. & PISSAREV, V. 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology*, **17**: 499-504.
- STADLER, T.; B. SUBRAMANIAM & FERRERO, A. A. 2003. "Monitoring for insecticide resistance in major stored product pests in Argentina: a review". *Agriscientia*, **XX**: 99-110.
- STEFFANAZZI, N.; GUTIERREZ, M.M.; CARIAC, M.; FERRERO, A. A. & STADLER, T. 2004. Repelencia en larvas de *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) *A Tagetes terniflora* (Asteraceae). www.trigo.uns.edu.ar/
- TALUKDER, F. A. & HOWSE, P. E. 1994. Laboratory evaluation of toxic and repellent properties of the pithraj tree, *Aphanamixis polystachya* Wall & Parker, against *Sitophilus oryzae* (L); *International Journal of Pest Management*, **40** (3): 274-279.
- TAPONDIU, A. L.; ADLER, C.; FONTEM, D. A.; BOUDA, H. & REICHMUTH, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, **41**: 91-102.

- TRIPATHI, A. KA; PRAJAPATI, V.; VERMA, N.; BAHL, J. R.; BANSAL, R. P.; KHANUJA, S. P. S. & KUMAR, S. 2002. Bioactivities of the Leaf Essential Oil of *Curcuma longa* (Var. Ch-66) On Three Species of Stored-Product Beetles (Coleoptera). *J. Econ. Entomol.*, **95**(1): 183-189.
- VASUDEVAN, P.; KASHYAP, S. & SHARMA, S. 1997. *Tagetes*: A multipurpose plant. *Bioresource Technology*, **62**:29-35.
- VIALE, J. A. 1995. Conservación de granos en silos-chacra. INTA Marco Juárez. 10pp.
- ZAR, J. H. 1999. Biostatistical Análisis. Cuarta edición. Ed. Prentice Hall, New Jersey. 663 pp.

(Recepción: 1 febrero 2006)
(Aceptación: 18 abril 2006)