© 2015
Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 14 (1): 48 - 59
ISSN 0717 7917
www.blacpma.usach.cl

Artículo Original | Original Article
Los autores dedican este artículo en homenaje al Dr. Ruperto Hepp Gallo

Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)

[Insecticidal properties of *Laurelia sempervirens* powder to *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) control]

Cristián TORRES[1], Gonzalo SILVA[1], Maritza TAPIA[1], J. Concepción RODRÍGUEZ[2], Angélica URBINA[1], Inés FIGUEROA[1], Angel LAGUNES[2], Candelario SANTILLÁN-ORTEGA[3], Agustín ROBLES-BERMÚDEZ[3] & Sotero AGUILAR-MEDEL[4]

[1]*Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chillán, Chile*
[2]*Programa de Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados, Montecillo. Estado de México. México*
[3]*Universidad Autónoma de Nayarit. Unidad Académica de Agricultura, Xalisco, Nayarit, México*
[4]*Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario Tenancingo, Tenancingo, Estado de México. México*
Contactos | Contacts: **Gonzalo SILVA** - ***E-mail address:*** **gosilva@udec.cl**

Abstract: *Sitophilus zeamais* is a key pest of stored cereals. The insecticidal properties of *Laurelia sempervirens* powder against S. zeamais were assessed in laboratory. The variable evaluated were mortality of adult insects by contact and fumigant toxicity, mortality of immature insects by contact toxicity, residual effect of powder stored under environmental or refrigerated conditions, adult insect emergence (F1), repellency and weight reduction and germination of maize. The concentrations evaluated were 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0% and the experimental design was completely randomly. In contact toxicity bioassay all treatments showed mortality over 90% while fumigant activity did not exceed 40%. The F1 only was registered in treatment of 0.25% and control showing all other treatments 0%. In immature control bioassay all treatments exhibited statistical differences with control. The storage of powder under refrigerated conditions not improved the residual effect. All concentrations of powder assessed showed repellence. Germination and grain weight loss of maize seeds not showed significant differences with control. We concluded that *L. sempervirens* has promissory perspectives to stored grain pests control.

Keywords: bioinsecticide, stored grain, pest, organic control

Resumen: *Sitophilus zeamais* es plaga primaria de los cereales almacenados. Se evaluaron, en laboratorio, las propiedades insecticidas del polvo de follaje de *Laurelia sempervirens* para el control de *S. zeamais*. Las variables evaluadas fueron mortalidad por contacto y fumigante de insectos adultos, toxicidad por contacto sobre estados inmaduros, efecto residual del polvo almacenado en condiciones ambientales y de refrigeración, emergencia de insectos adultos (F1), repelencia y pérdida de peso y germinación del maíz. Las concentraciones evaluadas fueron 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0% y el diseño experimental fue completamente al azar. En el bioensayo de toxicidad por contacto todos los tratamientos mostraron una mortalidad sobre el 90%, mientras que la actividad como fumigante no superó el 40%. La F1 sólo se registró en el tratamiento de 0,25% y en el testigo mostrando todos los otros tratamientos 0%. En el bioensayo de control de estados inmaduros todos los tratamientos exhibieron diferencias significativas con el testigo. El almacenamiento del polvo en condiciones de refrigeración no mejoró el efecto residual. Todas las concentraciones de polvo evaluadas registraron efecto repelente. La germinación y pérdida de peso de las semillas de maíz no mostraron diferencias significativas con el testigo. Se concluye que *L. sempervirens* tiene perspectivas promisorias para el control de plagas de los granos almacenados.

Palabras clave: bioinsecticida, granos almacenados, plagas, control orgánico.

Recibido | Received: 2 de Agosto de 2013
Aceptado | Accepted: 10 de Octubre de 2014
Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 20 de Noviembre de 2014
Publicado en línea | Published online: 30 de Enero de 2014
Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: C Torres, G Silva, M Tapia, JC Rodriguez, A Urbina, I Figueroa, A Lagunes, C Santillan-Ortega, A Robles-Bermudez. S Aguilar-Medel. 2015. Propiedades insecticidas del polvo de *Laurelia sempervirens* L. para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 14(1): 48 – 59.**

INTRODUCCIÓN

Los cereales constituyen una parte fundamental de la alimentación humana y animal pero; a nivel mundial, se pierde el 30% de las cosechas por causa de la plaga de los insectos (Abebe *et al.*, 2009). Según García-Lara *et al*., (2004), esta situación es aún más compleja en los países en vías de desarrollo debido a que las pérdidas pueden alcanzar hasta un 50%.

Los métodos más utilizados son insecticidas de contacto como organofosforados o piretroides y fumigantes como bromuro de metilo o fosfuro de aluminio. Sin embargo, el uso de insecticidas de contacto presenta una serie de desventajas como riesgo de residuos tóxicos en el grano, intoxicación de usuarios y consumidores, contaminación del ambiente y desarrollo de resistencia (White & Leesch, 2000). En el caso de los fumigantes también existen riesgos de intoxicación además de que algunos compuestos utilizados para la protección de semillas, como bromuro de metilo, se encuentran prohibidos en varios países por afectar la capa de ozono (Budnik *et al.*, 2012) y además la exposición a este compuesto podría asociarse a efectos genotóxicos en linfocitos y células orofaríngeas (Calvert *et al.*, 1998; De Souza *et al.*, 2013).

El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky; Coleoptera; Curculionidae) es un insecto cosmopolita, considerado en todo el mundo como plaga primaria de los cereales almacenados. Este insecto es capaz de infestar los granos antes de la cosecha y, si en el almacenaje no se toman medidas de control, en seis meses puede causar la completa destrucción de los granos (Tefera *et al.*, 2011). Los daños a las semillas los ocasionan tanto larvas como adultos debido a que las primeras se alimentan del endospermo mientras, que los adultos perforan el grano para ovipositar (García-Lara *et al.*, 2004). Además, este insecto ya cuenta con reportes de resistencia a insecticidas organofosforados (Evans, 1985; Pérez-Mendoza *et al.*, 1999), piretroides (Ribeiro et al. 2003) y a fosfuro de aluminio (Pimentel *et al.*, 2009), por lo que se hace necesaria la búsqueda de compuestos que no presenten las desventajas de los insecticidas sintéticos, ante lo cual los insecticidas de origen vegetal podrían constituir una de estas alternativas. Weaver y Subramanyam (2000), señalan que el uso más sencillo de estos insecticidas en la protección de granos almacenados es secar las plantas, molerlas y posteriormente mezclarlas con el grano. Los polvos vegetales pueden presentar actividad biológica como insecticidas de contacto (Malik & Mujtaba, 1984; Ileke & Olotuah, 2012), fumigante (Pizarro *et al.*, 2013), efecto antialimentario (Mazzonetto & Vendramim, 2003; Arango & Vásquez, 2008), disuasivo de la oviposición (De Castro *et al.*, 2010) y repelente (Makanjuola 1989; Baldín *et al.*, 2008).

Estudios realizados en Chile por Silva *et al.*, (2003a), Pérez *et al.*, (2007), Bustos-Figueroa *et al.*, (2009) y Pizarro *et al.*, (2013), han demostrado que el polvo de follaje de Boldo (*Peumus boldus* Molina; Monimiaceae) tiene propiedades insecticidas para el control de *S. zeamais* por, lo que podría inferirse que algunos de los compuestos con actividad insecticida de esta planta también podrían encontrarse en otras especies de la misma familia botánica como el Laurel chileno (*Laurelia sempervirens* (R *et* P) Tul).

El Laurel chileno es un árbol nativo de Chile, de hoja perenne que crece en la zona sur del país entre los 35° y los 42° de latitud sur. Este árbol puede alcanzar hasta 40 m de altura con un tronco en su mayor parte desprovisto de ramas (Diaz-Vaz, 1988). Las hojas son simples, esclerófilas y con una nervadura prominente que presenta una glándula dentada en el ápice (Montenegro, 2000). Según Muñoz *et al.*, (1999), esta planta se utiliza en la medicina tradicional chilena como antiinflamatorio, mientras que en China se recomienda para el tratamiento de la silicosis.

Desde el punto de vista fitoquímico, Bittner *et al.*, (2009) analizaron el aceite esencial de follaje de *L. sempervirens* encontrando que los principales componentes son safrol (69,3%) y 1-Metil-4-1-metil etil cyclohexano (18,5%). Por otra parte según Montenegro (2000) de la madera de esta especie se han aislado ocho alcaloides, los cuales de acuerdo a Cassels y Urzúa (1985) y Urzúa y Vásquez (1993) corresponden a alcaloides aporfinoides y bisbencilisoquinolínico. Específicamente, de la corteza de *L. sempervirens* se han aislado los alcaloides liriodenina, oxonantenina, N-nornantenina, aterolina y laurotetanina (Urzúa *et al.*, 1978; Schmeda-Hirschmann *et al.*, 1996). Tambien se ha aislado isotetrandrina (Bianchi *et al.*, 1962), y su biosíntesis (Bhakuni *et al.*, 1980).

En relación a su actividad biológica Montenegro *et al.* (2012) y Avello *et al.* (2012) indican que el aceite esencial y un extracto en acetato de etilo de madera de *L. sempervirens* presentan actividad antimicrobiana contra *Acinetobacter*

baumanii y *Pseudomonas aeruginosa*. Isotetrandrina ha sido caracterizada como antagonista de calcio (D'Ocon *et al.*, 1992; Anselmi *et al.*, 1994; Martinez, 2003) y también como antidepresiva (Protais *et al.*, 1995). Recientemente se ha descrito que protege contra la lesión pulmonar aguda inducida (Liang et al., 2014). Además Bittner *et al.* (2009) reportan que el aceite esencial de este árbol tiene propiedades fungistáticas contra *Rhizoctonia solani* Kühn (Donk), *Pythium irregulare* Buisman, *Ceratocystis pilifera* (Fr.) C. Moreau, *Phragmidium violaceum* (Schultz) G. Winter y *Fusarium oxysporum* Schltdl. Por otra parte Böhm *et al.* (2009) observaron una disminución en la población del nematodo fitoparásito *Meloidogyne hapla* cuando el sustrato de tierra y arena se mezcló con polvo de *L. sempervirens*. Por último, en cuanto a sus propiedades insecticidas Zapata y Smagghe (2010), reportan que el aceite esencial de follaje y corteza de Laurel chileno presenta actividad como insecticida de contacto, fumigante y repelente contra *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Por todo lo antes expuesto, el objetivo de la presente investigación fue evaluar, en condiciones de laboratorio, el efecto insecticida e insectistático del polvo de follaje de *L. sempervirens* sobre *S. zeamais.*

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, Región del Bío Bío, Chile.

Material vegetal

Se utilizó follaje de laurel (*L. sempervirens*), que se recolectó en Agosto de 2006 de árboles adultos, ubicados en la zona de Los Lleuques (36°51'18"S, 71°38'34"W, 286 msnm), en la precordillera de la provincia de Ñuble, Región del Bío Bío, Chile. El criterio de recolección fue el descrito por Vogel *et al.* (1997) que consiste en recolectar hojas al azar en distintas posiciones alrededor del árbol y de los cuatro puntos cardinales. La identificación taxonómica la realizó la botánica de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Lic. en Biología Angélica Urbina Parra tomando como referencia ejemplares depositados en el herbario de la facultad antes mencionada. En laboratorio el follaje se lavó con agua destilada y deshidrató por 72 h en un horno de convección forzada (Memmert Gmbh, UNB 500, Schwabach, Germany) a 40 ± 1 °C. Una vez alcanzada la deshidratación total de las hojas, éstas se molieron en un molino eléctrico para grano de café (Moulinex®, A5052HF, Aleçon, Francia) hasta obtener un polvo que pasara por un tamiz de 18 mesch (Dual Manufacturing Co., Chicago. Illinois, USA) debido a que estudios previos de Silva *et al.* (2003a) demostraron que esta granulometría es la que presenta la mayor adherencia sobre el grano.

Insectos

Se utilizaron adultos de *S. zeamais*, provenientes de la colonia permanente del Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción, Campus Chillán, la cual se obtuvo de maíz infestado naturalmente y desechado por vendedores del mercado de frutas y hortalizas de la ciudad de Chillán, Chile. Estas colonias se mantienen en frascos de vidrio de 1 L de capacidad utilizando maíz (*Zea mais* L.) como sustrato alimenticio y en condiciones controladas de 25 ± 1°C de temperatura, 70 ± 5% de humedad relativa y completa oscuridad en una cámara bioclimática (Memmert Gmbh, IPS 749, Schwabach, Germany). La diferenciación se sexos se realizó en base a los criterios de Juarez-Flores *et al.* (2010) quienes señalan que la probóscide de los machos presenta mayor ornamentación y grosor pero menor longitud que la de las hembras.

Cereal

El sustrato de alimentación de los insectos, tanto en las colonias como en los bioensayos, fue maíz debido a que por su mayor tamaño en relación al arroz o trigo permite observar con mayor facilidad el daño provocado por los insectos. Este maíz se adquirió en le mercado de frutas y hortalizas de la ciudad de Chillán y con el objetivo de eliminar posibles residuos de insecticidas este se lavó tres veces con agua potable y se dejó secar en una cámara bioclimática a 40 ± 5 °C por 24 h. Luego, para eliminar una infestación previa del grano por ácaros o insectos el maíz se refrigeró a -4 ± 1 °C por 48 h.

Toxicidad por contacto

La toxicidad por contacto se evaluó determinando la mortalidad y emergencia de insectos adultos (F_1). Los bioensayos para evaluar la toxicidad por contacto del polvo de *L. sempervirens* sobre adultos de *S. zeamais* se realizaron con la metodología de Lagunes y Rodríguez (1989). Esta consistió en colocar 200 g de maíz en un frasco de vidrio de 400 mL los cuales posteriormente se mezclaron con polvo de *L. sempervirens* en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 1,0;

2,0 y 4,0% (peso / peso (p/p)). Luego, cada frasco se infestó con 10 parejas de *S. zeamais* de 48 h de edad y 15 días después de la infestación (DDI) se evaluó el porcentaje de mortalidad que se corrigió con la fórmula de Abbott (Abbott, 1925; Wekesa *et al.*, 2011). Una vez evaluada la mortalidad, los frascos sin los insectos se devolvieron a la cámara bioclimática por 40 días más y al final de este periodo (55 DDI) se registró el porcentaje de emergencia de insectos adultos (F_1) considerando el testigo como 100%.

Toxicidad por efecto fumigante

Se evaluó, midiendo la mortalidad de los insectos por inhalación, para lo cual se utilizó una modificación de la metodología de Tavares y Vendramin (2005) que consistió en utilizar envases de plástico de 50 mL de capacidad, en cuya base interior y centrado, se fijó un tubo de PVC, de 2,0 cm de alto y 1,5 cm de diámetro, donde se colocó el polvo de *L. sempervirens* en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p). Posteriormente, el tubo de PVC se cubrió con un género de tul fino asegurado con una banda elástica de modo de impedir el contacto directo de los insectos con el polvo pero no entorpecer la liberación al medio de los compuestos volátiles. Luego, entre el tubo de PVC y la pared interior del envase de plástico se colocaron 20 g de maíz infestados con 20 *S. zeamais* adultos de 48 h de edad y 5 DDI se evaluó el porcentaje de mortalidad el que se corrigió con la fórmula de Abbott (Abbott, 1925; Wekesa *et al.*, 2011).

Pérdida de peso y germinación del grano

En el bioensayo de toxicidad por contacto contra adultos de *S. zeamais* a los 55 DDI, se evaluó el porcentaje de pérdida de peso del grano mediante diferencia de peso entre el peso inicial del grano (200 g) y el final. Con el objetivo de no contabilizar como efecto del tratamiento una posible disminución en el peso del grano por pérdida de humedad, se incluyó un testigo sin infestar y a los 55 DDI, se registró la diferencia de peso la cual se descontó en los tratamientos infestados con *S. zeamais*. Además, en aquellos tratamientos en que se obtuvo una mortalidad de adultos de *S. zeamais* superior a 80% se evaluó si el polvo de *L. sempervirens* afectó la germinación del maíz. Por esto, de cada repetición, por tratamiento, se escogieron al azar 20 semillas que se colocaron a germinar a temperatura ambiente en placas petri acondicionadas con un papel filtro Whatmann N° 10 humedecido durante siete días. La germinación se cuantificó considerando como 100% la germinación del testigo.

Toxicidad sobre estados inmaduros

En el bioensayo de toxicidad sobre estados inmaduros se utilizó la metodología de Obeng-Oferi *et al.*, (1998), que evalúa la emergencia de insectos adultos. Esta consistió en colocar 200 g de maíz en un frasco de 400 mL los que posteriormente se infestaron con 10 parejas de *S. zeamais* de menos de 72 h de edad a las que se les permitió reproducirse sin intervención durante 21 días en condiciones de 25 ± 1 °C de temperatura, 70 ± 5% de humedad relativa y completa oscuridad en una cámara bioclimática. Luego de transcurrido este periodo, se retiraron todos los insectos adultos y el grano se mezcló con el polvo de *L. sempervirens* en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p). Una vez mezclado el grano con el polvo semanalmente y por un periodo de 7 semanas, se evaluó la emergencia de insectos adultos considerando al testigo como 100%.

Residualidad

El efecto residual se evaluó determinando la mortalidad de los insectos con el método de Obeng-Ofori y Reichmuth (1997). El follaje deshidratado de *L. sempervirens* se molió con un molino eléctrico para grano de café y el polvo obtenido se dividió en dos grupos iguales que se colocaron en envases plásticos opacos y herméticos. Durante 15 días uno de los envases se almacenó a temperatura ambiente (20 ± 5 °C) y el otro en refrigeración (4,5 ± 1 °C). Transcurrido este periodo, en envases de vidrio de 400 mL se mezclaron 200 g de maíz con polvo de *L. sempervirens* en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p). En seguida, cada frasco se infestó con 20 adultos de *S. zeamais* sin sexar y de menos de 72 horas de edad para luego ser almacenados en una cámara bioclimática a 25 ± 1 °C de temperatura, 70 ± 5% de humedad relativa y completa oscuridad. Finalmente 15 DDI se evaluó la mortalidad la cual se corrigió con la fórmula Abbott (Abbott, 1925; Wekesa *et al.*, 2011).

Efecto repelente

Para evaluar la actividad como repelente del polvo de *L. sempervirens* se determinó el índice de repelencia, para lo cual se utilizó la metodología de Tavares y Vendramim (2005), que consiste en un dispositivo conocido como arena de libre elección formado por cuatro placas petri plásticas de 5 cm de diámetro, conectadas en forma diagonal a una placa central por

tubos plásticos de 10 cm de longitud formando una "X". En dos placas diagonalmente opuestas se depositaron 20 g de maíz sin polvo mientras que en las placas restantes se colocaron 20 g de maíz mezclados con polvos de *L. sempervirens* en concentraciones de 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p). Posteriormente, en la placa central se liberaron 20 insectos adultos sin sexar y a las 24 h de establecido el bioensayo se contabilizó el número de insectos en cada placa. Con los valores obtenidos se calculó el índice de repelencia (IR) de Mazzonetto y Vendramin (2003) que clasifica al polvo como repelente si el IR es menor a 1, como neutro si es igual a 1 y como atrayente si es mayor a 1.

Diseño experimental y análisis estadístico

En todos los bioensayos se utilizó un diseño experimental completamente al azar, a excepción del bioensayo de residualidad donde se incluyó un arreglo factorial de 2*6 conformado por las dos temperaturas de almacenamiento (refrigeración y temperatura ambiente) y seis concentraciones de polvo (0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p)). En todos los bioensayos cada tratamiento tuvo seis repeticiones y la metodología completa se repitió tres veces en diferentes días para disminuir el error experimental. Los resultados obtenidos se transformaron previamente a $(X/100)^{0,5}$ (Steel y Torrie, 1996) y se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) y una prueba de comparación de medias Tukey con un 5% (α = 0,05) de significancia (Gómez & Gómez, 1984), utilizando el software Statistical Analysis System (SAS) V.8 (SAS Institute, 1998).

RESULTADOS

Toxicidad por contacto

Todos los tratamientos evaluados registraron una mortalidad superior al 90%, y no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellos (Tabla 1). La menor mortalidad se observó en la concentración de 0,25% (p/p) con 93% mientras que todas las restantes mostraron un 100% de insectos muertos.

Tabla 1
Toxicidad por contacto, efecto fumigante y emergencia (F_1) de adultos de *S. zeamais* tratados con diferentes concentraciones de polvo de *L. sempervirens*

Concentración (%)	Mortalidad por contacto (%)*	Emergencia (F_1) (%)*	Mortalidad por efecto fumigante (%)*
0,00	0,0 a	100 a	0,0 a
0,25	93,0 b	3,0 b	5,9 ab
0,50	100 b	0,0 b	6,7 ab
1,00	100 b	0,0 b	14,4 bc
2,00	100 b	0,0 b	19,5 c
4,00	100 b	0,0 b	39,8 d
(CV)** (%)	5,18	5,21	30,3

***Tratamientos con igual letra, no difieren estadísticamente entre si, (Tukey, $p \leq 0,05$)**
****Coeficiente de variación**

Emergencia de insectos adultos (F_1)

El único tratamiento con polvo de *L. sempervirens* que registró emergencia fue la concentración de 0,25% (p/p) que presentó un 3,0% aunque no difirió estadísticamente ($p > 0,05$) con las concentraciones más altas de polvo. La única diferencia estadística se registró con el testigo (Tabla 1). Cabe destacar que todas las concentraciones de polvo de *L. sempervirens* que tuvieron una mortalidad de 100% no registraron emergencia de insectos adultos (0%).

Toxicidad por efecto fumigante

La toxicidad como fumigante del polvo de *L. sempervirens* no superó el 40% de mortalidad (Tabla 1). La mayor mortalidad se observó en el tratamiento de 4,0% (p/p) con 39,8% y fue estadísticamente superior ($p \leq 0,05$) a las restantes concentraciones, las cuales no alcanzaron el 20% de mortalidad.

Germinación y pérdida de peso del grano

La menor germinación se registró con el tratamiento de 0,25 % (p/p) que con un 85% fue el único que no superó el 90% de semillas germinadas (Tabla 2). Sin

embargo, ninguno de los tratamientos evaluados mostró diferencias significativas ($p > 0,05$) con el testigo. En relación a la pérdida de peso del grano, todos los tratamientos con polvo de *L. sempervirens* perdieron menos del 1% difiriendo estadísticamente ($p \leq 0,05$) del testigo cuyo peso disminuyó un 3,32% (Tabla 2).

Tabla 2
Germinación y pérdida de peso del grano de maíz tratado con diferentes concentraciones de polvo de *L. sempervirens* para el control de *S. zeamais*.

Concentración (%)	Germinación (%)*	Pérdida peso grano (%)*
0,00	100 a	3,32 a
0,25	85,0 a	0,73 b
0,50	90,0 a	0,36 b
1,00	93,3 a	0,11 b
2,00	96,7 a	0,07 b
4,00	95,0 a	0,07 b
(CV)** (%)	9,07	60,63

***Tratamientos con igual letra, no difieren estadísticamente entre si (Tukey, $p \leq 0,05$)**
****Coeficiente de variación**

Toxicidad sobre estados inmaduros

La emergencia de insectos adultos de *S. zeamais* se observó a partir de la semana cinco desde el retiro de los insectos y aunque ninguno de los tratamiento superó el 15% de emergencia, en relación al testigo (Tabla 3), se destaca el tratamiento de 4,0% (p/p) que durante todo el bioensayo no presentó emergencia de insectos adultos. Además, en todos los periodos de evaluación los tratamientos con polvo de *L. sempervirens* registraron una F_1 significativamente menor ($p \leq 0,05$) que el testigo que se consideró como 100%

Tabla 3
Emergencia de insectos adultos (F_1) en maíz tratado con diferentes concentraciones de polvo de *L. sempervirens* en el control de estados inmaduros de *S. zeamais*.

Concentración (%)	Emergencia (F_1) (%)*			
	Semanas 1, 2, 3 y 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7
0	0,0 a	100 a	100 a	100 a
0,25	0,0 a	7,3 b	9,8 b	12,0 b
0,5	0,0 a	4,9 b	9,7 b	7,8 b
1,00	0,0 a	5,5 b	6,5 c	7,7 b
2,00	0,0 a	1,3 cd	3,5 d	3,8 c
4,00	0,0 a	0,0 d	0,0 d	0,0 d
CV (%)	0,0	28,4	24,8	23,7

***Tratamientos con igual letra, no difieren estadísticamente entre sí (Tukey, $p \leq 0,05$)**
****Coeficiente de variación**

Residualidad

El análisis factorial indicó que la interacción entre tipo de almacenamiento y concentración de polvo de *L. sempervirens* no es significativa por lo que no existe diferencia estadística ($p > 0,05$) entre el almacenamiento del polvo a temperatura ambiente y en refrigeración (Tabla 4). El polvo almacenado en refrigeración tuvo una mortalidad máxima de 85,0% a la concentración de 4,0% (p/p) aunque no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. En el caso del polvo almacenado en condiciones de temperatura ambiente la mayor mortalidad también se observó en la concentración de 4,0% (p/p) con 86,9% aunque sin diferencias estadísticas con

2,0% (p/p) que presentó un 85,3% de insectos muertos.

Efecto repelente

Todos los tratamientos mostraron índices de repelencia menores a 1 (Tabla 5), aunque los menores valores del índice se observaron en las concentraciones de 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p) con 0,06; 0,04 y 0,08 respectivamente.

Tabla 4
Residualidad del efecto insecticida por contacto del polvo de *L. sempervirens* almacenado a temperatura ambiente y refrigeración contra adultos de *S. zeamais*

Concentración (%)	Mortalidad[12] (%) Refrigeración	Temperatura ambiente
0,25	78,3 aA	73,1 aA
0,5	81,6 abA	79,3 aA
1,00	83,3 abA	83,1 abA
2,00	83,3 abA	85,3 bA
4,00	85,0 abA	86,9 bA
CV (%)*	9,7	22,1

[1]Dentro de la misma fila, los valores con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $p \leq 0,05$)
[2]Dentro de la misma columna, los valores con la misma letra minúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $p \leq 0,05$)
*Coeficiente de variación

Tabla 5
Efecto repelente del polvo de *L. sempervirens* sobre adultos de *S. zeamais.*

Concentración (%)	Índice repelencia (IR)[1]*
0,25	0,22 a
0,5	0,13 a
1,00	0,08 a
2,00	0,06 a
4,00	0,04 a
CV (%)**	18,35

[1]Dentro de la misma columna, los valores con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $p \leq 0,05$)
*IR > 1 planta atrayente; IR = 1 planta neutra; IR < 1 planta repelente
**Coeficiente de variación

DISCUSIÓN

En la toxicidad por contacto los resultados obtenidos en la presente investigación son superiores a los reportados por Morales (2011), quien a una concentración de 1,0% (p/p) de polvo de *L. sempervirens* obtuvo un 93,7% de mortalidad de adultos de *Sitophilus oryzae* L. Igualmente, la efectividad del polvo de follaje de laurel chileno es mayor a la de otras monimiáceas como *P. boldus* y tepa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) (Schodde), con las cuales Silva *et al.* (2003 a y b) y Ortiz *et al.* (2012), obtuvieron un 90% de insectos muertos solo con concentraciones superiores a 1,0% (p/p). Además, *L. sempervirens* muestra mayor toxicidad que el polvo de follaje de otras especies evaluadas contra *S. zeamais* en otras partes del mundo, como *Allium sativum* L. (Liliaceae) (Danjumma *et al.*, 2009), *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) (Danjumma *et al.*, 2009), *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) (Ntonifor *et al.*,

2011), *Piper guineense* Thonn & Schum (Piperaceae) (Asawalam *et al.,* 2007), *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) (Asawalam *et al.,* 2007), *Garcina kola* Heckel (Guttiferae) (Ileke & Oni, 2011), *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae) (Ileke & Oni, 2011) y *Lonchocarpus punctatus* Kunth (Fabaceae) (González *et al.,* 2011), que no superaron el 90% de mortalidad; o bien necesitaron concentraciones iguales o superiores a 4,0% (p/p) para alcanzarlo. Por último, desde el punto de vista de la protección de la especie por sobreexplotación pensando en el posible futuro desarrollo de un insecticida comercial, *L. sempervirens* constituye una mejor opción que *P. boldus* debido a que por su mayor toxicidad requiere una menor cantidad de material vegetal afectándose en menor grado la densidad natural de la planta.

En la emergencia de insectos adultos (F_1) se observó la tendencia de que a mayor mortalidad existe una menor F_1 coincidiendo con Morales (2011) quien encontró que concentraciones de 1,0; 2,0 y 4,0% de polvo *L. sempervirens* disminuyen significativamente la emergencia de adultos de *S. oryzae*. Esta tendencia también es reportada por Silva *et al.* (2003a y 2003b) y Nuñez *et al.* (2010) para *P. boldus* y por Ortiz *et al.* (2012) para *L. philippiana*. Además, también se han observado resultados similares con el polvo de follaje de otras especies nativas evaluadas contra *S. zeamais* como Canelo (*Drimys winteri* J.R. et G. Forster) (Winteraceae) (Andrade *et al.,* 2009). Por último, el único tratamiento que registró emergencia de insectos adultos fue el de menor concentración de polvo de *L. sempervirens* (0,25% (p/p)), por lo que se infiere que esta concentración no es suficiente para una completa protección del grano y que los insectos sobrevivientes seguramente no estuvieron en contacto con una cantidad de polvo que les resultara tóxica, pudiendo reproducirse y oviponer.

En la toxicidad por efecto fumigante al considerar el criterio de Lagunes (1994) quien señala que para clasificar a un polvo vegetal como prometedor para el control de plagas de los productos almacenados, este debe matar al menos el 40% de la población a una concentración de 1,0% (p/p), el polvo de *L. sempervirens* no se puede considerar como una opción viable. Además, el que solo se obtenga un 40% de mortalidad con una concentración de 4,0% (p/p) implica que para un quintal de 100 kg de grano se requieren 4 kg de polvo lo cual es una alternativa poco práctica debido a la gran cantidad de material vegetal que se necesitaría. Estos resultados son similares a los reportados por Nuñez *et al.,* (2010) para *P. boldus* quienes con una concentración de 2% (p/p) no superaron el 40% de mortalidad y por Ortiz *et al.* (2012) quienes concluyeron que el polvo de *L. philippiana* no presenta toxicidad como fumigante contra adultos de *S. zeamais*.

El hecho de que la germinación del maíz no se viera afectada de manera significativa al mezclar los granos con el polvo de *L. sempervirens* concuerda parcialmente con Morales (2011) quien señala que esto es válido para concentraciones menores a 4,0%. Sin embargo, al haber tratamientos con polvo de *L. sempervirens* bajo este umbral que presentaron un 100% de mortalidad por contacto y que no afectaron la germinación del maíz, se puede señalar que estas podrían utilizarse para la protección de granos destinados a alimentación humana y animal como también para semilla. Por otra parte, en todos los tratamientos se observa una pérdida de peso inferior al 1% lo cual indica que la rápida acción insecticida de contacto del polvo evitó que *S. zeamais* y su progenie se alimentaran del grano manteniendo éste su peso y calidad proteica. Finalmente cabe destacar que según White (1999) las condiciones para exportar semilla de maíz son de 90% de germinación y menos de 1% del grano dañado por insectos, por lo que el polvo de *L. sempervirens* cumple sin inconvenientes con estos estándares.

En relación a la toxicidad sobre estados inmaduros la emergencia de insectos adultos (F_1) en los tratamientos con polvo de *L. sempervirens*, en comparación al testigo, fue significativamente menor lo que implica que el polvo presenta algún tipo de efecto larvicida u ovicida sobre *S. zeamais*. Estos resultados coinciden con los obtenidos para polvo (Pérez *et al.,* 2007) y aceite esencial (Betancur *et al.,* 2010) de *P. boldus* los cuales también mostraron un control significativo de estados inmaduros de *S. zeamais*.

El valor menor a uno en el índice de repelencia que mostraron la totalidad de los tratamientos evaluados significa que todos tienen efecto repelente (Mazzonetto & Vendramim, 2003). Sin embargo, aunque no existen diferencias significativas entre los tratamientos se observa que las mayores concentraciones de polvo de *L. sempervirens* presentan los valores más alejados a 1 lo cual implica un mayor efecto. Esto coincide con Morales (2011), quien concluyó que concentraciones de 1,0; 2,0 y 4,0% (p/p) de polvo de *L. sempervirens* son repelentes para adultos de *S. oryzae*. Estos valores también son similares a los obtenidos para el

polvo de otras monimiáceas como *P. boldus* (Pizarro *et al.*, 2013) y *L. philippiana* (Ortiz *et al.*, 2012) que también se clasificaron como repelentes para *S. zeamais*. Este efecto complementa las propiedades como insecticida de contacto del polvo de *L. sempervirens* debido a que aún en bajas concentraciones mantiene alejado al insecto del grano evitando infestaciones externas lo que le confiere un efecto preventivo.

Por último, se debe señalar que la toxicidad de *L. sempervirens* seguramente se debe a que su aceite esencial posee un contenido de safrol superior al 60% (Niemeyer & Teillier 2007; Bittner *et al.*, 2008; Zapata & Smagghe 2010). Según Huang *et al.*, (1999), este compuesto presenta actividad insecticida de contacto y fumigante además de reducir la tasa de crecimiento y el consumo y eficacia de conversión del alimento en *S. zeamais* y *T. castaneum*. Igualmente como componente mayoritario del aceite esencial de *L. sempervirens* presenta actividad insecticida como fumigante contra *S. zeamais* (Bittner *et al.*, 2008), *T. castaneum* (Zapata & Smagghe 2010), *Acathoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) (Bittner *et al.*, 2008) y *Acyrthosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae) (Zapata *et al.*, 2010). Esto hace que *L. sempervirens* no sea comparable con las otras monimiáceas chilenas como *L. philippiana* y *P. boldus* ya que según Niemeyer y Teillier (2007) la primera, en comparación al laurel chileno, posee una baja concentración de safrol (21,4%) mientas que la segunda no posee este compuesto.

CONCLUSIÓN

El polvo de follaje de *Laurelia sempervirens* presenta actividad biológica como insecticida de contacto, inhibidor de la reproducción (F_1) y efecto repelente sobre adultos y estados inmaduros de *Sitophilus zeamais* sin afectar la germinación de las semillas de maíz.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Sra Carolina Sepúlveda Campos del Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Concepción y dedican este trabajo a la memoria del Dr. Ruperto Hepp Gallo, activo colaborador de esta línea de investigación hasta poco antes de su fallecimiento, en Septiembre de 2007. Igualmente se agradece a los revisores anónimos asignados por BLACPMA cuyas observaciones permitieron mejorar significativamente el presente trabajo.

REFERENCIAS

Abbott WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J Econ Entomol** 18: 265 - 267.

Abebe F, Tefera T, Mugo S, Beyene Y, Vidal S. 2009. Resistance to maize varietis to the maize weevil Sitphilus zeamais (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). **Afric J Biotechnol** 8: 5937 - 5943.

Andrade Y, Silva G, Zapata N, Tapia M, Rodríguez JC, Lagunes A. 2009. Toxicidad de polvos de canelo (*Drimys winteri* J.R. et G. Forster) contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) en laboratorio. **Agro-Ciencia Rev Chil Cs Agropec** 25: 33 - 40.

Anselmi E, Gomez-Lobo MD, Blazquez MA, Zafra-Polo MC, D'Ocon MP. 1994. Influence of the absolute configuration on the vascular effects of tetrandrine and isotetrandrine in rat aorta. **Pharmazie** 49: 440 - 443.

Arango GP, Vásquez MC. 2008. Efecto tóxico de *Verbena officinalis* (familia verbenaceae) en *Sitophilus granarius* (coleoptera: curculionidae). **Rev Lasallista Invest** 5: 74 - 82.

Asawalam EF, Emosairue, Ekeleme F, Wokocha RC. 2007. Insecticidal effects of powdered parts of eight Nigerian plant species against maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Elec J Environm Agric Food Chem** 6: 2526 - 2533.

Avello M, López C, Gatica C, Bustos E, Brieva A, Pastene E, Bittner M. 2012. Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias *Lauraceae* y *Atherospermataceae*. **Rev Cub Plant Med** 17: 73 - 83.

Baldin ELL, Pereira JM, Dal Pogetto MHFA, Christovam RS, Caetano AC. 2008. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grâos de feijâo armazenado. **Bol Sanit Veg Plagas** 34: 177 - 185.

Betancur J, Silva G, Rodrígez JC, Fischer S, Zapata N. 2010. Insecticidal activity of *Peumus boldus* Molina essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Chil J Agric Res** 70: 399 - 407.

Bhakuni DS, Singh AN, Jain S. 1980. Biosynthesis of isotetrandrine. **Tetrahedron** 36: 2149 - 2151.

Bianchi E, Garbarino JA, Giora F. 1962. Gli alcaloidi della *Laurelia sempervirens* (R. e Pav.). **Gazz Chim Ital** 92: 818 - 822.

Bittner M, Aguilera MA, Hernández V, Arbert C, Becerra J, Casanueva ME. 2009.Fungistatic activity of essential oils extracted from *Peumus boldus* Mol., *Laureliopsis philippiana* (looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz &Pav) Tul. (Chilean monimiaceae). **Chil J Agric Res** 69: 30 - 37.

Böhm L, Arismendi N, Ciampi L. 2009. Nematicidal activity of leaves of common shurb and tree species from southern Chile against *Meloidogyne hapla*. **Cienc Inv Agric** 36: 249 - 258.

Budnik, LT, Kloth S, Velasco-Garrido M, Baur X. 2012. Prostate cancer and toxicity from critical use exemptions of methyl bromide: Environmental protection helps protect against human health risks. **Environm Health** 11: 5.

Bustos-Figueroa G, Osses-Ruiz F, Silva-Aguayo G, Tapia-Vargas M, Hepp-Gallo R, Rodríguez-Maciel JC. 2009. Insecticidal properties of *Peumus boldus* Molina poder used alone and mixed with lime against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculioniae). **Chil J Agric Res** 69: 350 - 355.

Calvert GM, Talaska G, Mueller CA, Ammenheuser MM, Au WW, Fajen JM, Fleming LE, Briggle T, Ward E. 1998. Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. **Mut Res** 417: 115 - 128.

Cassels BK, Urzúa A. 1985. Bisbenzylisoquinoline alkaloids of *Laurelia sempervirens*. **J Nat Prod** 48: 671.

Danjumma BJ, Majeed Q, Manga SB, Yabaya A, Dike MC, Bamaiyi L. 2009. Effect of some plant powders in the control of *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera:Curculionidae) infestation on Maize grains. **American-Eurasian J Sci Res** 4: 313 - 316.

De Castro MJ, Da Silva PE, Santos JR, Da Silva JA. 2010. Efeito de pós vegetais sobre a oviposição de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão-caupi. **BioAssay** 5: 1 - 10.

De Souza A, Kedareshwar PS, Sindhoora KV. 2013. The neurological effects of methyl bromide intoxication. **J Neurol Sc**i 335: 36 - 41

Diaz-Vaz JE. 1988. Anatomía de la madera de *Laurelia sempervirens* (R. et. Pav.) Tul. **Bosque** 9: 123 - 124.

D'Ocon MP, Blázquez A, Bermejo A, Anselmi E. 1992. Tetrandrine and isotetrandrine, two bisbenzyltetrahydroisoquinoline alkaloids from Menispermaceae, with rat uterine smooth muscle relaxant activity. **J Pharm Pharmacol** 44: 579 - 582.

Evans NJ.1985. The effectiveness of various insecticides on some resistant beetle pests of stored products from Uganda. **J Stor Prod Res** 21: 105 - 109.

García-Lara S., Bergvinson DJ, Burt AJ, Ramputh AI, Diaz-Pontones DM, Arnason JT. 2004. The role of pericarp ell wall components in maize weevil resistance. **Crop Sci** 44: 1546 - 1552.

Gómez K, Gómez A. 1984. **Statistical Procedures for Agricultural Research.** 2da ed. John Wiley & Sons, New York, USA.

González S, Pino O, Herrera RS, Valenciaga N, Fortes D, Sánchez Y. 2011. Potential of the powders of *Lonchocarpus punctatus* in the control of *Sitophilus zeamais*. **Cub J Agric Sci** 45: 89 - 94.

Huang Y, Shuit HH, Manjunatha RK. 1999. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). J Econ Entomol 92: 676 - 683.

Ileke KD, Oni MO. 2011. Toxicity of some plant powders to maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulky) (Coleoptera: Curculionidae) on stored wheat grains (*Triticum aestivum*). **Afric J Agric Res** 6: 3043 - 3048.

Ileke KD, Olotuah OF. 2012. Bioactivity of *Anacardium occidentale* (L) and Allium sativum (L) powders and oils extracts against cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Int J Biol** 4: 96 - 103.

Juárez-Flores BI, Jasso-Pineda JR, Aguirre-Rivera JR, Jasso-Pineda I. 2010. Efecto de polvos de asteráceas sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motsch). **Polibotánica** 30: 123 - 135.

Lagunes A. Rodríguez C. 1989. **Búsqueda de la tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas.** Colegio de Postgraduados. Montecillo. Texcoco, México.

Lagunes A. 1994. **Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas del maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia.** Memoria. Colegio de Post-graduados USAID-CONACYT-BORUCONSA. Montecillo. Texcoco, México.

Liang XM, Guo GF, Huang XH, Duan WL, Zeng ZL 2014. Isotetrandrine protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by suppresssion of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B. **J Surg Res** 187: 596 - 604.

Makanjuola, WA. 1989. Evaluation of extracts of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) for the control of some stored product pests. **J Stored Prod Res** 25: 231 - 237.

Malik, MM, Mujtaba N. 1984. Screening of some indigenous plants as repellents or antifeedants for stored grain insects. **J Stored Prod Res** 20: 41 - 44.

Martinez JL. 2003. Alcaloides bisbenciliso-quinolinicos como antagonistas de calcio de origen natural: comparación de actividades. **Rev Asoc Colombiana Cienc Biol** 15: 11 - 32.

Mazzoneto F, Vendramin J. 2003. Efeito de pos origen vegetal sobre *Acanthoscelides* obtectus (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. **Neotropical Entomol** 32: 145 - 149.

Montenegro G. 2000. **Chile, nuestra flora útil. Guía de uso apícola, medicinal folclórica, artesanal y ornamental.** Ed. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Montenegro I, Madrid-Villegas A, Zaror L, Martínez R, Werner E, Carrasco-Altamirano H, Cuellar-Fritis M, Palma-Fleming H. 2012. Antimicrobial activity of ethyl acetate extract and essential oil from bark of *Laurelia sempervirens* against multiresistant bacteria. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 11: 306 - 315.

Morales P. 2011. **Evaluación de follaje de tres especies arbóreas nativas sobre *Sitophilus oryzae* L. en trigo almacenado**. Memoria Ingeniero Agrónomo, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. 1999. **Plantas medicinales de uso en Chile. Química y farmacología**. Ed. Universitaria, Santiago, Chile.

Ntonifor NN, Forbanka DN, Mbuh JV. 2011. Potency of *Chenopodium ambrosioides* powders and its combinations with wood ash on *Sitophilus zeamais* in stored maize. **J Entomol** 8: 375 - 383.

Nuñez P, Silva G, Tapia M, Hepp G, Rodríguez JC, Lagunes A. 2010. Toxicidad de polvos de follaje de Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y Boldo (*Peumus boldus* Mol.) solos y en mezcla con carbonato de calcio sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky). **Agro-Ciencia Rev Chil Cs Agropec** 26: 71 - 80.

Obeng-Oferi D, Reichmuth CH. 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil Ocimum suave (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. **Int J Pest Manag** 43: 9 - 94.

Obeng-Oferi D, Reichmuth CH, Bekeles A, Hassanali A. 1998. Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimun kilimandscharicum*, against four stored product beetles. **Int J Pest Manag** 44: 203 - 209.

Ortiz A, Silva G, Urbina P, Zapata N. 2012. Bioactivity of Tepa (*Laureliopsis philippiana* (Looser) Shodde) poder to *Sitophilus zeamais* Motschulsky control in laboratory. **Chil J Agric Res** 72: 68 - 73.

Pérez F, Silva G, Tapia M, Hepp, R. 2007. Variación anual de las propiedades insecticidas de *Peumus boldus* sobre *Sitophilus zeamais*. **Pesq Agropec Bras** 42: 633 - 639.

Pérez-Mendoza J. 1999. Survey of insecticide resistance in mexican populations of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **J Stored Prod Res** 35: 107 - 115.

Pimentel MAG, Faroni LRDA, Guedes RNC, Sousa AH, Tótola MR. 2009. Phophine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J Stored Prod Res 45: 71 - 74.

Pizarro D, Silva G, Tapia M, Rodríguez JC, Urbina A, Lagunes A, Sántillan-Ortega C, Robles-Bermúdez A, Aguilar-Medel S. 2013. Actividad insecticida del polvo de *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) contra *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 12: 420 - 430.

Protais P, Arbaoui J, Bakkali EH, Bermejo A, Cortes D. 1995. Effects of various isoquinoline alkaloids on in vitro 3H-dopamine uptake by rat striatal synaptosomes. **J Nat Prod** 58: 1475 - 1484.

Ribeiro BM, Guedes RNC, Oliveira EE, Santos JP. 2003. Insecticide resistanceand synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculiondae). **J Stored Prod Res** 39: 21 - 31.

SAS Institute. 1998. **Language guide for personal computer release**. 6.03 Edition. SAS Institute. Cary. NC, USA.

Schmeda-Hirschmann G, Dutra-Behrens M, Habermehl G, Jakupovic J. 1996. Seco-isotetradrine from *Laurelia sempervirens*. **Phytochemistry** 41: 339 - 341.

Silva G, Lagunes A, Rodríguez JC. 2003a. Control de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con polvos vegetales solos y en mezcla con carbonato de calcio en maíz almacenado. **Cienc Invest Agr** 30: 153 - 160.

Silva G, Pizarro D, Casals P, Berti M. 2003b. Evaluación de plantas medicinales en polvo para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en maíz almacenado. **Rev Bras Agroc** 9: 383 - 388.

Steel, RGD, Torrie, JH. 1996. **Bioestadística: Principios y Procedimientos.** McGraw-Hill. México DF, México.

Tavares M, Vendramim J. 2005. Bioatividade de Erva de Santa Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera:Curculionidae). **Neotropical Entomol** 34: 319 - 323.

Tefera T, Mugo S, Likhayo P. 2011. Effects of insect population density and storage time on grain damage and weight loss in maize due to the maize weevil *Sitophilus zeamais* and the larger grain borer Prostephanus truncatus. **Afric J Agric Res** 6: 2249 - 2254.

Urzúa A, Cassels BK, Comin J, Sánchez E. 1978. Alcaloides de *Laurelia sempervirens* y *L. philippiana*. **Contrib Científ Tecnol USACH** 12: 17 - 23.

Urzúa A, Vasquez L. 1993. Alcaloides de madera de *Laurelia sempervirens*. Análisis de trifluroacetil derivados por CGL-EM. **Bol Soc Chil Quím** 38: 35 - 41.

Vogel H, Razmilic I, Doll U. 1997. Contenido de aceite esencial y alcaloides en diferentes poblaciones de boldo (*Peumus boldus* Mol.). **Cienc Invest Agr** 24: 1 - 6.

Wekesa I, Onek LA, Deng AL, Hasanali A, Othira JO. 2011. Toxicity and repellant potency of *Hyptis spicigera* extracts on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **J Stored Prod Postharvest Res** 2: 113 - 119.

Weaver, D, Subramanyam B. 2000. **Botanicals.** In Subramanyan B, Hagstrum DW: Alternatives to pesticides in stored product IPM. Kluwer Academics Publishers. Boston. USA.

White, NDG. 1999. **Insects, mites, and insecticides in stored-grain ecosystems**. In Jayas DS, White NDG, Muir WE: Stored-grain ecosystems. Marcel Dekker Inc. New York. USA.

White, NDG, Leesch JG. 1996. **Chemical control.** In Subramanyam B, Hagstrum DW: Integrated management of insects in stored products. Marcel Dekker Inc. New York. USA.

Zapata N, Smagghe G. 2010. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. **Ind Crops Prod** 32: 405 - 410.

Zapata N, Lognay G, Smagghe G. 2010. Bioactivity of essential oils from leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Acyrthosiphon pisum*. **Pest Manag Sci** 66: 1324 - 1331.