

**Evaluación en laboratorio de seis extractos
botánicos para el control de larvas de
Lepidoptera, usando *Galleria mellonella* (L.)
como modelo**

Israel Alejandro Reyna Peralta

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**
Noviembre, 2020

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Evaluación en laboratorio de seis extractos
botánicos para el control de larvas de
Lepidoptera, usando *Galleria mellonella* (L.)
como modelo**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Israel Alejandro Reyna Peralta

ZAMORANO, HONDURAS
Noviembre, 2020

Evaluación en laboratorio de seis extractos botánicos para el control de larvas de Lepidoptera, usando *Galleria mellonella* (L.) como modelo

Presentado por

Israel Alejandro Reyna Peralta

Aprobado:



[Jesús Orozco \(Nov 9, 2020 13:04 CST\)](#)

Jesús Orozco, Ph.D.
Asesor Principal



Rogel Castillo, M.Sc.
Director
Departamento de Ciencia y Producción
Agropecuaria



[Rogelio Trabanino \(Nov 11, 2020 14:36 CST\)](#)

Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor



Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Vicepresidente y Decano Académico



[José Guadalupe Ontiveros Guerra \(Nov 11, 2020 14:51 CST\)](#)

José Guadalupe Ontiveros Guerra, M.Sc.
Asesor

Evaluación en laboratorio de seis extractos botánicos para el control de larvas de Lepidoptera, usando *Galleria mellonella* (L.) como modelo

Israel Alejandro Reyna Peralta

Resumen. La contaminación ambiental producto del uso de plaguicidas es muy elevada. Existen algunas plantas que poseen propiedades insecticidas o repelente a partir de metabolitos secundarios y que pueden ser usadas para elaborar insecticidas menos contaminantes. Se exploró el uso de seis extractos botánicos para el control de lepidópteros utilizando larvas de *Galleria mellonella* (L.) como insecto modelo. Se evaluó la mortalidad de larvas y se determinó la CL50 y TL50. Se evaluaron tres dosis/extracto, las cuales se asignaron según los resultados de mortalidad en un diseño completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento, y cinco larvas por unidad experimental. Las observaciones se realizaron en intervalos de 8 y 16 horas hasta las 264 horas. Se realizó análisis de regresión y análisis Probit para la determinación de la TL50 y CL50. Los tratamientos en su mayoría no tuvieron diferencias significativas entre sus medias para la variable mortalidad, no obstante, el aceite de *Capsicum* a 15 g/L presentó mortalidad más alta (4.67) y diferencias mínimas significativas a los demás tratamientos. El aceite de orégano a 5 g/L y el aceite de pimienta negra a 10 g/L presentaron los niveles más bajos de mortalidad. Las CL50 más bajas se obtuvieron con el aceite de *Capsicum* (2.78 g/L), hiedra metanólico (6.65 g/L) y toloache (8.38 g/L). Los mejores TL50 fueron los extractos de hiedra metanólico (173 horas), aceite de *Capsicum* (185 horas) y aceite de orégano (191 horas).

Palabras clave: Análisis Probit, concentración letal media, ensayos toxicológicos, tiempo letal medio.

Summary. The environmental pollution is very high due to the use of pesticides. There are some plants that have insecticidal or repellent properties from secondary metabolites and can be used to make less contaminant insecticides. The use of six botanical extracts for the control of Lepidoptera was explored using *Galleria mellonella* (L.) larvae as a model insect. Larval mortality was evaluated and the LC50 and TL50 were determined. Three doses / extract were implemented, which were assigned according to the mortality results; in a completely randomized design, with three replications per treatment and five larvae per experimental unit. Observations were made at 16- and 8-hour intervals until 264 hours. Regression analysis and Probit analysis were performed to determine the TL50 and LC50. Most of the treatments did not have significant differences between their means for the mortality variable, however, *Capsicum* oil at 15 g/L presented significant differences and the highest mortality (4.67). The oregano oil at 5 g/L and black pepper oil at 10 g/L had the lowest mortality levels. The best LC50 were obtained by *Capsicum* oil (2.78 g/L), methanolic ivy (6.65 g/L) and toloache (8.38 g/L). The best TL50 were methanolic ivy extracts (173 hours), *Capsicum* oil (185 hours) and oregano oil (191 hours).

Keywords: Mean lethal concentration, mean lethal time, Probit analysis, toxicological tests.

ÍNDICE GENERAL

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4. CONCLUSIONES.....	13
5. RECOMENDACIONES.....	14
6. LITERATURA CITADA	15

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro	Página
1. Análisis de mortalidad de larvas de <i>Galleria mellonella</i> , realizado por GreemCorp	5
2. Extracto y dosis en g/L utilizadas en los ensayos de toxicidad.....	5
3. Mortalidad promedio por dosis implementadas (g/L) en cada uno de los extractos.....	7
4. Análisis Probit para la concentración letal media	9
5. Análisis Probit para el tiempo letal medio	9

Figuras	Página
1. Establecimiento de las unidades experimentales de los bioensayos de toxicidad.....	4
2. Aplicación y establecimiento de los extractos en sus diferentes dosis	4
3. Representación de larvas muertas producto del efecto de los tratamientos	7
4. Relación dosis y porcentaje de mortalidad en <i>Galleria mellonella</i> (L.) en los diferentes extractos, a las 264 horas de las observaciones.....	8
5. Líneas de regresión concentración Probit para los extractos de aceite de <i>Capsicum</i> , hiedra metanólico y toloache en los ensayos de mortalidad	10
6. Líneas de regresión de tiempos letales Probit para los extractos de hiedra Metanólico, aceite de <i>Capsicum</i> y aceite de orégano en los ensayos de mortalidad.....	11

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más importantes en cuanto al manejo de los cultivos agrícolas es el control de plagas, definidas estas como organismos que atacan a los cultivos y cuyo nivel poblacional sube hasta producir una reducción o anulación del rendimiento y causar pérdidas económicas (Jiménez 2009). La presencia de plagas en los cultivos representa una amenaza tanto para el agricultor que enfrenta el daño como para sus parcelas adyacentes (FAO 2001).

Existen diferentes técnicas y métodos para el manejo de plagas, entre los más importantes están: el control cultural, mecánico, físico, biológico, genético, químico y orgánico; la integración de estos da lugar al manejo integrado de plagas (MIP) (Jiménez 2009; Escobar 2016). Mucho de estos métodos han traído consigo repercusiones ambientales importantes, en especial con el uso de plaguicidas de amplio espectro y altamente disruptivos (control químico) (García y Navarro 1995).

En la actualidad, la implementación de plaguicidas es muy diversa; la agricultura es la actividad donde más emplean este tipo de productos, consumiendo hasta un 85% de la producción mundial de plaguicidas (Rodríguez *et al.* 2014). La contaminación ambiental por parte de los plaguicidas dependerá de las características (residualidad, toxicidad, tipo de molécula, entre otras) que posea el producto, afectando a los sistemas abióticos (aire, agua y suelo) y bióticos (plantas y animales), amenazando con la estabilidad de estos sistemas y convirtiéndose en una fuente de peligro para la salud pública (Rodríguez *et al.* 2014).

Una de las alternativas que han surgido para hacer frente a esta problemática del uso excesivo de plaguicidas y la contaminación ambiental está en la producción orgánica (Devine *et al.* 2008). Actualmente la agricultura orgánica certificada abarca solo el 1% del área total cultivada en el mundo (37.2 millones de ha), de los cuales el 23% se concentra en América Latina (Escobar 2016). Este tipo de producción emplea una alternativa de producción de plaguicidas a través de biopreparados, donde se utilizan sustancias de origen vegetal, animal o mineral que tienen efectos insecticidas o repelentes (Salinas 2014; Terrile 2010).

Para la elaboración de estos biopreparados se usan plantas que poseen sustancias aleloquímicas o metabolitos secundarios (ácidos grasos, lignanos, alcaloides, esteroides y terpenos), que por lo general no son esenciales para las operaciones metabólicas y se caracterizan por tener propiedades insecticidas o repelentes (Celis *et al.* 2008). Entre los insectos plaga más importantes están los pertenecientes al orden Lepidoptera; las larvas son de tipo eruciformes (orugas) y con un aparato bucal masticador que representa el principal causante de daños en los cultivos (Barros *et al.* 2015). Dentro del orden se encuentran 13 superfamilias que son consideradas plagas de importancia económica, algunos ejemplos son: Noctuoidea, Gelechioidea, Pyraloidea y Tortricoidea (Selfa y Anento 1997).

Las plantas poseen una gran variedad de mecanismo de defensa contra los insectos plaga, estos mecanismos se clasifican en físicos y químicos, adquiriendo una serie de ventajas adaptativas (Caballero 2004). El mecanismo de interés, en el caso de la utilización de extracto vegetales, es de tipo químico; el cual corresponde a un conjunto de compuestos aleloquímicos o metabolitos secundarios que tienen un efecto negativo en la biología, desarrollo o comportamiento de otra

especie (Caballero 2004). Los efectos de las sustancias químicas sobre otro organismo pueden ser tóxico, repelente, disuasorio y reductor de digestibilidad (Caballero 2004).

Las biomoléculas con actividad insecticida se pueden clasificar en inhibidores de la alimentación y compuestos fitotóxicos (Alonso 1999). Los inhibidores de la alimentación están constituidos por un grupo de compuestos como: terpenoides, donde se ha demostrado su actividad insecticida contra larvas de *Heliothis virescens* (F.), *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) y *Aphis fabae* (Scopoli); compuestos aromáticos (alcaloides, fenoles, quinonas y ácidos fenólicos) compuestos heterocíclicos (cumarinas, taninos, flavanoides, lignanos y taninos) y esteroides; todas estas moléculas provocan un efecto de interrupción de la alimentación del insecto, provocando así la muerte por inanición (Alonso 1999; Luna *et al.* 2007). En cuanto a los compuestos fitotóxicos se encuentran: las toxinas de tipo lineal como los aldehídos, los cuales poseen un grupo orgánico carbonilo responsable de la actividad insecticida y las fitotoxinas cíclicas, las cuales están compuestas de alcaloides derivados del tropano y poseen varias moléculas con nitrógeno secundario, terciario y cuaternario que confiere la alta toxicidad (Alonso 1999; Luna *et al.* 2007).

En las últimas décadas la utilización de insectos modelo en experimentos de laboratorio ha alcanzado un gran apogeo (Gómez 2015). Existen diferentes especies de Lepidoptera usadas como modelo para estudios científicos, no obstante, la implementación de *Galleria mellonella* (L.) ha adquirido mayor popularidad debido a que son insectos fáciles de criar y no necesitan de instalaciones especializadas para el establecimiento y mantenimiento de sus colonias (Roe *et al.* 2009; López *et al.* 2017).

Existen diferentes métodos estadísticos para poder evaluar la relación estímulo - respuesta de un insecticida sobre los insectos: la concentración letal media (CL_{50}) consiste en determinar el estímulo necesario al cual responde el 50% de la población, y el tiempo letal medio (TL_{50}), es el tiempo de exposición requerido por una sustancia para producir una mortalidad del 50% en determinada población (Tejeda *et al.* 2009; Silbergeld 1998). Las formas de aplicación de los productos a los insectos que son utilizados para los análisis de efectividad son muy diversas, algunos ejemplos son: inmersión, tópica, en la dieta, película residual, papel filtro, frascos, entre otras; estas pueden variar según el estudio y la metodología a utilizar (Poter 2009, 2012).

Debido a la problemática actual en función de la alta demanda de alimentos y el impacto ambiental producto de la explotación agrícola con el uso de agroquímicos nocivos para el ambiente y la salud, nos lleva al planteamiento de este experimento. Aprovechando las propiedades que poseen ciertas plantas para repeler o controlar insectos se plantea evaluar diferentes extractos botánicos para el control de larvas de Lepidoptera. Los objetivos de esta investigación fueron:

- Evaluar diferentes extractos botánicos como controladores potenciales de larvas de Lepidoptera usando *Galleria mellonella* (L.) como modelo.
- Determinar la CL_{50} de diferentes extractos botánicos para el control de larvas de Lepidoptera usando *Galleria mellonella* (L.) como modelo.
- Determinar el TL_{50} de diferentes extractos botánicos para el control de larvas de Lepidoptera usando *Galleria mellonella* (L.) como modelo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó entre los meses de mayo a junio de 2020, en el laboratorio de entomología de “GreenCorp Biorganiks” de México, S.A. de C.V.; este se encuentra ubicado en Boulevard Colosio N°1858 Colonia San Patricio, Saltillo, Coahuila, México. “GreenCorp Biorganiks” está enfocada en la mejora del rendimiento y sanidad agrícola a través de la producción de insumos agrícolas de origen orgánico para la bioprotección, bioestimulación y como coadyuvantes en los cultivos.

Selección del material vegetal

Alrededor de 400 materias primas, entre extractos acuosos y aceites, son utilizadas por “GreenCorp Biorganiks” para la elaboración de sus productos comerciales. Usando información de ensayos previos sobre la efectividad de algunos extractos sobre algunos insectos de interés económico, se consideraron cuatro criterios para seleccionar el material a usar en este estudio: la disponibilidad de las materias primas en República Dominicana, México y Honduras, su precio, su accesibilidad (facilidad de su distribución en los mercados locales e internacionales), y su mortalidad en larvas de lepidópteros.

El procedimiento general utilizado para la elaboración de los extractos acuosos y aceites incluye el pesaje, molienda (reducción de la partícula), mezclado de la materia prima vegetal con el solvente (agua, etano, metano, hexano, acetona, etc.) a través de reactores de extracción, filtrado, y la contracción con equipos de destilación a temperaturas de 54–80 °C. El procedimiento fue el mismo para todos los extractos, pero las temperaturas utilizadas, los tiempos de concentración, el solvente a utilizar, entre otras cosas, estuvieron en función de la especie botánica utilizada y el producto elaborado.

Selección del insecto modelo

Se utilizó una colonia de *Galleria mellonella* (L.), establecida en el laboratorio de la empresa, la cual se encuentra a una temperatura de 24–27 °C y humedad relativa promedio de 40%. Las larvas son alimentadas con un concentrado a base de harina de maíz (18%), harina de trigo (18%), papilla de cereales (18%), leche en polvo (12%) levadura (6%) y miel de abeja (28%).

Se usaron larvas a partir del instar VI, con una edad de 31 días después de la eclosión de los huevos y longitud promedio de 16 mm. Las unidades experimentales se ubicaron en vasos transparentes de polietileno de baja densidad y tapas del mismo material con agujeros (Figura 1). La alimentación se realizó cada cinco días.

Susceptibilidad de las larvas a extractos acuosos y aceites vegetales (determinación de CL₅₀ y TL₅₀)

En base a los criterios de selección, se eligieron seis materias primas. Utilizando tres diferentes dosis/extracto, lo cual es considerado lo mínimo recomendado para este tipo de ensayo toxicológico en CL₅₀ y TL₅₀ (Montgomery 2013).

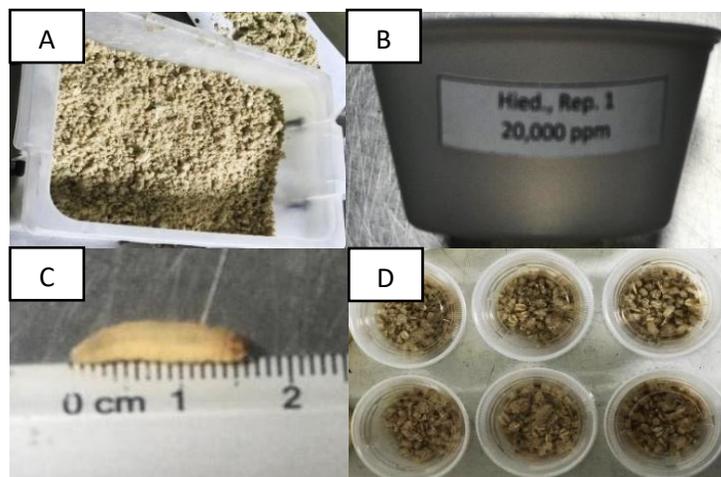


Figura 1. Establecimiento de las unidades experimentales de los bioensayos de toxicidad. (A) Preparación de la dieta, (B) etiquetado; (C) selección de las larvas; (D) unidades experimentales.

Las dosis implementadas fueron desde los 5 g/L hasta 20 g/L; las dosis bajas se utilizaron en los extractos que presentaron mayor mortalidad conocida en la base de datos de la empresa (Cuadro 1), mientras que las dosis más altas fueron implementadas en los extractos de menor mortalidad (Cuadro 2). Se utilizaron un total de seis extractos con tres dosis por extracto y un testigo absoluto (TA, agua destilada), se implementaron tres repeticiones para cada uno de los tratamientos y el testigo absoluto.

Se realizaron aplicaciones tópicas sobre el dorso de las larvas, colocando un volumen aproximado de 0.1 mL y secando el exceso de líquido con un papel filtro. Las larvas se ubicaron en vasos de polietileno de baja densidad con alimento (Figura 2).

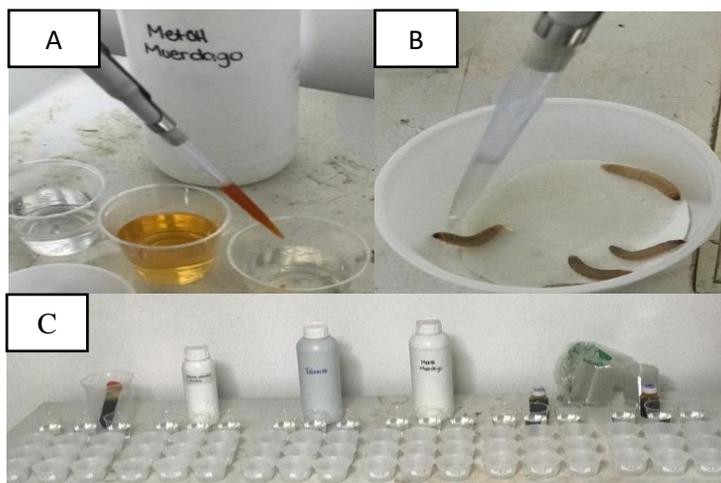


Figura 2. Aplicación y establecimiento de los extractos en sus diferentes dosis. (A) Diluciones para las dosis; (B) aplicaciones tópicas sobre el dorso de las larvas; (C) Ubicación de las larvas en cada unidad experimental.

Cuadro 1. Análisis de mortalidad de larvas de *Galleria mellonella* (L.), realizado por la empresa GreemCorp, utilizando una dosis de 10 g/L a 10 días de observación.

Fuente: Base de datos de la empresa GreemCorp

Extracto	Nombre Científico	Familia	%Mortalidad
Muérdago	<i>Viscum album</i> L.	Santalaceae	35
Aceite pimienta	<i>Piper nigrum</i> L.	Piperaceae	35
Hiedra metanolico	<i>Hedera helix</i> L.	Araliaceae	40
Toloache hoja	<i>Datura stramonium</i> L.	Solanaceae	43
Aceite de orégano	<i>Origanum vulgare</i> L.	Lamiaceae	60
Aceite de <i>Capsicum</i>	<i>Capsicum chinense</i> L.	Solanaceae	65

Cuadro 2. Extractos y dosis en g/L utilizados en los ensayos de toxicidad.

Extracto	Dosis 1	Dosis 2	Dosis 3
Muérdago	10	15	20
Aceite pimienta	10	15	20
Hiedra metanólico	10	15	20
Toloache hoja	10	15	20
Aceite de orégano	5	10	15
Aceite <i>Capsicum</i>	5	10	15

La evaluación de la mortalidad se realizó mediante observaciones cada 16 y 8 horas, empezando a las 16 horas después de la aplicación hasta las 264 horas. Las larvas se consideraron muertas cuando presentaban una coloración parda-oscura a negra, cuando no podían realizar movimiento coordinado o este se encontraba muy reducido. En ocasiones se aplicó presión con un alfiler sobre el dorso inferior de la larva y si esta no regresaba a una posición vertical se consideraba moribunda.

Análisis estadístico. En la determinación de la CL₅₀ y TL₅₀ se implementó un análisis de regresión y análisis Probit; para esto fue necesario estimar la mortalidad mediante la ecuación 1:

$$p = \left(\frac{r}{n} \right) \times 100 \quad [1]$$

n: Número de individuos

r: Número de organismos muertos o afectados.

p: Porcentaje de efecto.

El método de análisis de regresión y análisis Probit permite estimar la CL₅₀ y TL₅₀ mediante un ajuste de mortalidad utilizando técnicas de probabilidad y además estima los valores que sigan una distribución logarítmica de tolerancia. El porcentaje de organismos muertos por la acción toxica de

la sustancia se transforma a unidades Probit, permitiendo un ajuste de la línea de regresión de la concentración o tiempo a unidades Probit. Un Probit de 0.5 corresponderá a la cantidad de sustancia y el tiempo de exposición que pueden generar los efectos estudiados en la mitad de la población (Bain *et al.* 2004).

Se utilizó la prueba de máxima verosimilitud, dentro de un marco de regresión en *Rstudio* versión 3.4.3 con el paquete “ecotoxicology” versión 1.0.1. El análisis de la varianza (ANDEVA) fue mediante un diseño completamente al azar (DCA), calculando las medias de las mortalidades utilizando el método de la diferencia mínima significativa (LSD de Fisher) para comparaciones múltiples entre medias, y a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Los resultados fueron analizados con el software de análisis estadístico, “InfoStat” versión 2020I. En el caso de la mortalidad presente en el testigo absoluto, se utilizó una fórmula de ajustes (Ecuación 2) (Brogdon y Chan 2010).

$$\text{Mort. corregida} = \frac{(\% \text{mort. en el tratamiento} - \% \text{mort. en el testigo absoluto})}{(100\% - \% \text{mort. en testigo absoluto})} \times 100 \quad [2]$$

Los gráficos de regresión nos permiten visualizar datos, intervalos de confianza, y la curva que presenta el modelo. La abscisa es visualizada en escala logarítmica, debido a que, la representación de los datos generados en la relación concentración o tiempo y la respuesta genera una gráfica parabólica que dificulta la construcción de un modelo lineal. Si transformamos los valores de la abscisa (variables independientes) a una escala logarítmica (Ecuación 3) se presentan entonces una relación de forma S o sigmoidea normal.

$$X = \log_{10}(\text{la variable dependiente}) \quad [3]$$

Existen modelos de regresión lineal que ayudan a explicar la relación entre la variable dependiente (X) e independiente (Y), esto se puede expresar a través de la función simple (Ecuación 4); presentando valores aproximados de la relación entre X y Y, por consiguiente, para un dado valor de X el modelo puede predecir un dado valor de Y. En este caso se utilizaron los paquetes drc y lm del software *Rstudio*, en la realización de los gráficos de regresión lineal ajustada y determinar los coeficientes para la ecuación de predicción.

$$y = a + bx \quad [4]$$

y: La variable dependiente.

a: Intercepto en el eje Y cuando X=0.

b: La pendiente de la curva.

x: El predictor.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el promedio de la mortalidad por dosis mediante el método de diferencias mínimas significativas (LSD de Fisher), el extracto de aceite de *Capsicum* a 15 g/L obtuvo un mayor efecto con 4.67 larvas muertas (Figura 3 y Cuadro 3), teniendo diferencias significativas con todos los demás tratamientos. Los tratamientos en su mayoría no presentaron diferencias significativas entre sus medias, no obstante, los tratamientos de aceite de orégano a 5 g/L y aceite de pimienta negra a 10 g/L presentaron las mortalidades más bajas. El análisis de varianza mostró diferencias significativas para tratamientos, un coeficiente de determinación (R^2) ajustado de 0.91, indicando que los tratamientos nos explican el 91 % de la variabilidad de los datos, y un coeficiente de variación de 1.64.

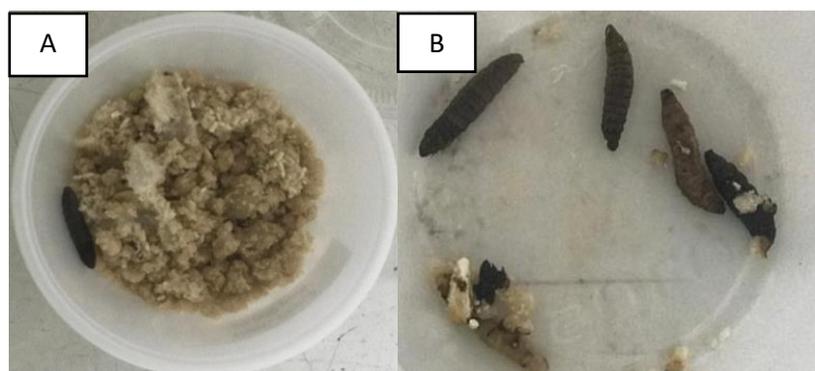


Figura 3. Representación de larvas muertas producto del efecto de los tratamientos. (A y B) muestran la coloración presentadas por larvas que murieron en las observaciones.

Cuadro 3. Mortalidad promedio por dosis implementadas (g/L) en cada uno de los extractos y sus correspondientes indicadores estadísticos.

Extracto	n	5 g/L	10 g/L	15 g/L	20 g/L
Ace. <i>Capsicum</i>	3	3.33 bcde [¥]	4.33 ab	4.67 a	-
Ace. Orégano	3	2.00 f	2.33 ef	3.33 bcde	-
Muérdago	3	-	2.67 def	3.00 cdef	3.33 bcde
Toloache	3	-	2.67 def	3.33 bcde	3.67 abcd
Hiedra metanólico	3	-	3.33 bcde	3.67 abcd	4.00 abc
Ace. Pimienta	3	-	2.00 f	3.00 cde	3.33 bcde
TA	3	0.33 g			
P	<0.0001				
R^2 ajustado	0.91				
Coefficiente de Variación	1.64				

n: Número de repeticiones por dosis.

¥: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

Los puntos marcados en las líneas del gráfico de dispersión (Figura 4), representan la mortalidad máxima, en porcentaje, alcanzada para cada uno de los tratamientos (extracto-concentración) a las 264 horas (Cuadro 3). Los tres extractos con las mortalidades más elevadas fueron el aceite de *Capsicum* (93.4%), hiera metanólico (80%) y toloache (73.4%), por consiguiente, los tratamientos compuestos por concentraciones más altas tuvieron mejores efectos en la mortalidad de las larvas, cumpliendo así con uno de los principios de la toxicología: a mayor concentración de la sustancia provocara un aumento en su efecto respuesta (Bain *et al.* 2004).

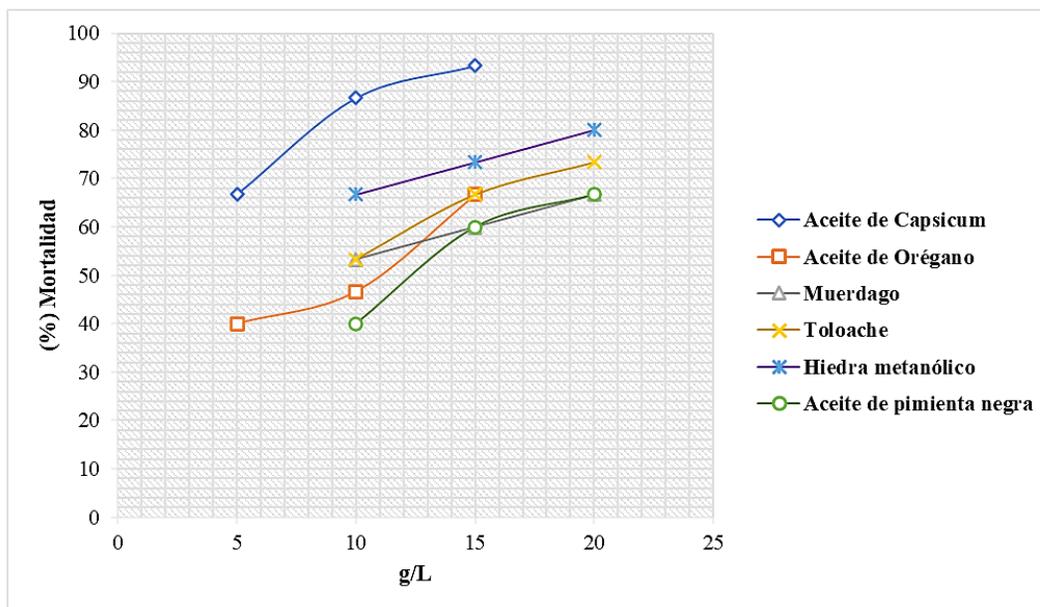


Figura 4. Relación dosis y porcentaje de mortalidad en *Galleria mellonella* (L.) en los diferentes extractos, a las 264 horas de las observaciones.

Concentración letal media (CL₅₀)

Se consideraron los mejores extractos a aquellos que causaron una mortalidad del 50% de la población a la menor concentración. El aceite de *Capsicum* mostró el mejor CL₅₀ con una concentración de 2.78 g/L, límites fiduciales inferior de 1.49 g/L y superior de 3.79 g/L, de la curva de regresión, indicando un intervalo de confianza donde se puede encontrar la CL₅₀, y un valor de probabilidad de 0.0002. La hiedra metanólico presentó su CL₅₀ con una concentración de 6.65 g/L, un intervalo inferior de 4.83 g/L y superior 8.35 g/L, y un valor de probabilidad de 1.837e-06. El extracto de toloache presentó el tercer mejor valor de CL₅₀ con concentración de 8.38 g/L, un límite inferior de 4.01 g/L y superior de 11.70 con un valor de probabilidad de 9.337e-06 (Cuadro 4).

Tiempo letal medio (TL₅₀)

El cálculo del tiempo letal 50 se obtuvo mediante el análisis de regresión lineal del conjunto de todas las concentraciones y sus tiempos en escala logarítmica, para cada uno de los extractos. Los mejores tratamientos son aquellos que alcanzaron una mortalidad del 50% de la población en un menor tiempo.

Cuadro 4. Análisis Probit para la concentración letal media.

Extractos	LC₅₀	LFI	LFS	Pend	Inter.	R²	P-value
Ace. <i>Capsicum</i>	2.78	1.49	3.79	0.0075	26.83	0.97	0.0002
Ace. Orégano	13.12	13.12	11.70	0.0027	8.27	0.98	5.526e-05
Muérdago	9.75	6.56	12.50	0.0026	19.33	0.99	3.276e-05
Toloache	8.38	4.01	11.70	0.002	30.73	0.99	9.337e-06
Hiedra metanólico	6.65	4.83	8.35	0.0043	13.22	0.99	1.837e-06
Ace. Pimienta	13.58	11.19	16.20	0.0037	-5.57	0.98	3.231e-06

LC₅₀: Concentración letal media (g/L).

LFI: Limite fiducial inferior (g/L).

LFS: Limite fiducial superior (g/L).

Inter: Intercepto en el eje de coordenada “y”.

Pend: Pendiente de la curva de regresión.

R²: R-cuadrado ajustado.

P-value: El valor de probabilidad

La hiedra metanólico fue el mejor tratamiento con un tiempo efectivo de 173 horas en alcanzar la letalidad media, con limites fiduciales inferior de 108 horas y superior de 235 horas, de la curva de regresión, indicando un intervalo de confianza donde se puede encontrar la TL₅₀, y un valor de probabilidad de 1.063e-06. El aceite de *Capsicum* fue el segundo mejor con un tiempo efectivo de 185 horas, un intervalo inferior de 155 horas y superior 190 horas, y un valor de probabilidad de 1.962e-08. El aceite de orégano fue el tercer mejor con un tiempo letal medio efectivo de 191 horas, un límite inferior de 166 horas y superior de 221 horas, con un valor de probabilidad de 4.909e-05 (Cuadro 5).

Cuadro 5. Análisis Probit para el tiempo letal medio.

Extracto	LT₅₀	LFI	LFS	Pend.	Inter.	R²	P-value
Ace. <i>Capsicum</i>	185	155	190	0.2736	-3.43	0.98	1.962e-08
Ace. Orégano	191	166	221	0.3259	-15.25	0.96	4.909e-05
Muérdago	234	216	256	0.3894	-41.8	0.95	0.0002
Toloache	226	215	239	0.3421	-28.81	0.98	8.642e-07
Hiedra metanólico	173	108	235	0.3103	-9.56	0.95	1.063e-06
Ace. Pimienta	194	174	214	0.309	-13.37	0.99	2.482e-08

TL₅₀: Tiempo letal medio (horas).

LFI: Limite fiducial inferior (horas).

LFS: Limite fiducial superior (horas).

Inter: Intercepto en el eje de coordenada “y”.

Pend: Pendiente de la curva de regresión.

R²: R-cuadrado ajustado.

P-value: El valor de probabilidad.

La relación estímulo (concentración o tiempos de exposición de la sustancia) y respuesta, en un modelo de regresión lineal, nos muestra que a mayor estímulo tendrán una mayor respuesta. Los extractos de aceite de *Capsicum*, toloache y hiedra metanólico presentan una mayor mortalidad a media que aumenta la concentración, en función de la CL₅₀, mostrando la dispersión de datos alrededor de la línea regresora, como también el intercepto en “Y” y la pendiente de la curva (Figura 5).

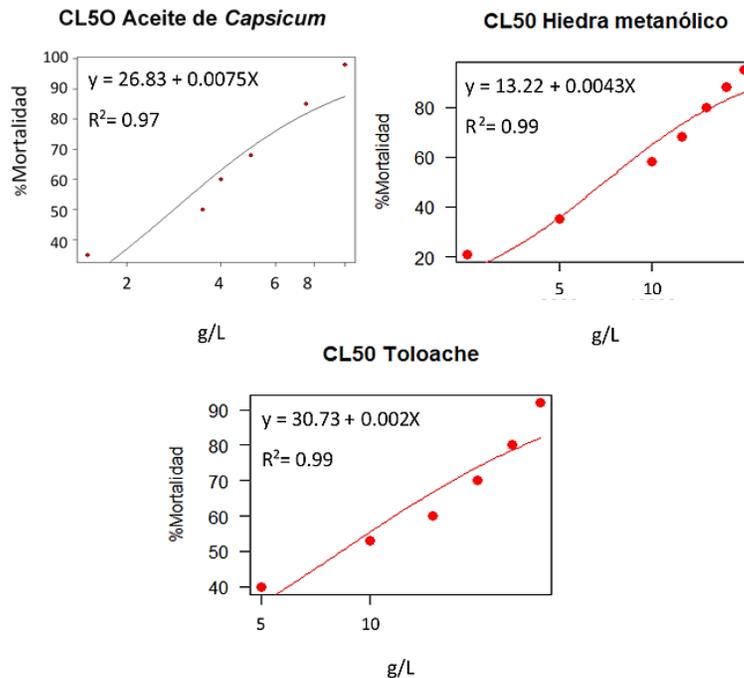


Figura 5. Líneas de regresión concentración Probit para los extractos de aceite de *Capsicum*, hiedra metanólico y toloache en los ensayos de mortalidad.

En el caso del tiempo letal, los extractos de hiedra metanólico, aceite de *Capsicum* y aceite de orégano presentan una mayor mortalidad a media que aumenta el tiempo de exposición de la sustancia, en función de la TL₅₀ (Figura 6). El aceite de *Capsicum* pertenece al grupo de aceites esencial compuesto por capsaicina (grupo de capsaicinoides), β -cariofileno, palmitato de metilo, ácido palmítico, y ácido mirístico (Wahyuni *et al.* 2013). El β -cariofileno es considerado altamente potenciador de efectos de otras moléculas, por otra parte, la capsaicina extraída de *Capsicum* sp., es considerada el componente irritante y repelente del extracto, y que posee altos efectos larvicidas (Suazo *et al.* 2012; Koleva *et al.* 2012). Koleva *et al.* (2012) evaluaron el efecto ecopesticida de las capsaicinas en el control de *Myzus persicae* (Sulzer), y encontraron un 97.4% de mortalidad utilizando una concentración de 12.2374 mg/mL; adicionalmente encontraron que a mayor concentración la actividad biocida y larvicida aumenta. Claros (2016) en un estudio enfocado en el control de *Aphis cytisorum* (Hartig) utilizando bioinsecticidas de capsaicinoide, mostró una reducción de la población de más del 95% de la población en un intervalo de siete días.

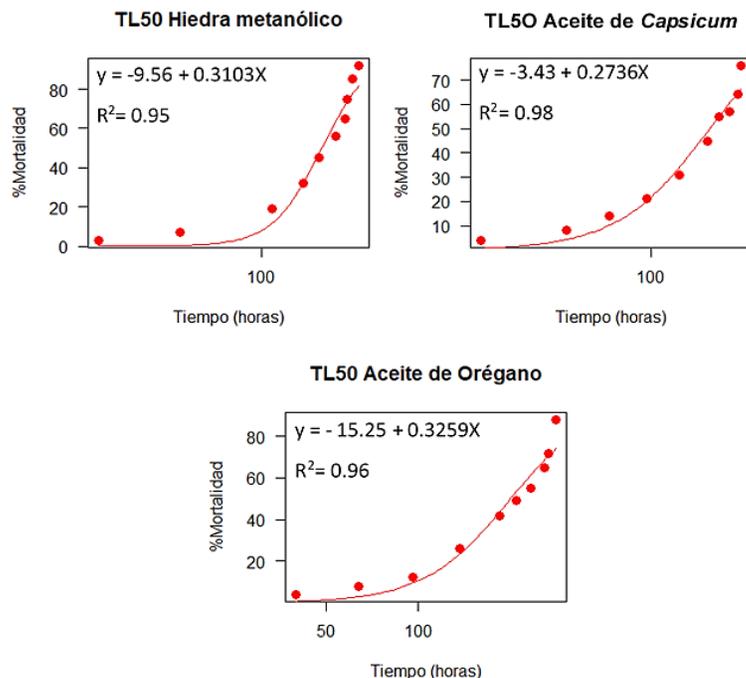


Figura 6. Líneas de regresión de tiempos letales Probit para los extractos de hiedra Metanólico, aceite de *Capsicum* y aceite de orégano en los ensayos de mortalidad.

El extracto metanólico de *Hedera helix* L. (hiedra) está compuesto por un grupo flavonoide de saponinas (α -hederina, β -hederina), sesquiterpenos (β -elemeno), ácidos polifenólicos (ácido clorogénico, ácido isoclorogénico), flavonoides (rutina, isoquercitrina), y tocoferole (α -tocoferol) (Elias *et al.* 1991). Los compuestos flavonoides de bajo peso molecular representan uno de los grupos con alta actividad insecticida, estos provocan la inhibición de la NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) deshidrogenasa en el transporte respiratorio (Bruneton 1995; Miyoshi 1998). Las saponinas causan una alteración de la membrana del insecto (Pelah *et al.* 2002). Morimoto *et al.* (2003) realizaron un estudio donde aislaron siete flavonas de extracto de raíz *Sculletaria baicalensis* demostró su efecto positivo antialimentario y larvicida contra *Spodoptera litura*.

El extracto acuoso de toloache o muérdago (*Datura stramonium* L.) posee un grupo complejo de ingredientes activos (solanina, demisina y nicotina) considerados compuestos alcaloides derivados del tropano que confieren una alta toxicidad, propiedades insecticidas, o evitan la interacción planta-insecto (Mateos *et al.* 2004; Bazaoui *et al.* 2009). Las hojas de toloache también presentan alcaloides tropánicos considerados metabolitos de atropina, hiosciamina y escopolamina, los cuales atacan directamente el sistema nervioso central del insecto (Villegas *et al.* 2019). El modo de acción de los compuestos alcaloides es interfiriendo en la replicación del ADN, alterando transporte de sustancia a través de la membrana, inhibidor enzimático y agonista del acetil colina (neurotransmisor) (Wink 2003; Fellows *et al.* 1986; Sultana *et al.* 2002). En el sur de México el extracto acuoso de toloache se considera causante del 79% de la mortalidad de ninfas y adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Reyes *et al.* 2013). Villegas *et al.* (2019) evaluaron las eficiencias de los extractos de diferentes partes de la planta (raíz, hoja, tallo) de *D. stramonium* en el control de

larvas de la mosca de la sierra (*Neodiprion autumnalis* Smith y Wagne), encontrando mejores mortalidades en los extractos provenientes de la hoja.

El aceite de *Origanum vulgare* L. está compuesto por flavonoides (polifenoles) como los alcoholes alifáticos, agliconas, apigenina y la luteolina, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano, así como también, de monofenoles de timol y carvacrol (isómero del timol) (principales quimiotipos); grupos de compuestos reportados con alta actividad insecticida (Lozano *et al.* 2004; Deighton *et al.* 1993; Morimoto *et al.* 2000). El compuesto timol pertenece al grupo terpenoides, los cuales actúan inhibiendo la síntesis de quitina o reduciendo la producción de enzimas digestivas en el insecto (Koul *et al.* 1996). Lozano *et al.* (2004) midieron el efecto de varias especies de orégano sobre la mortalidad de la larva de *Culex molestus* Forskal, encontrando que las moléculas de carvacrol y timol de las especies de orégano tenían un alto efecto significativo en el cálculo de la CL₅₀. Se ha reportado que el timol posee efectos antialimentarios, subletales y letales contra las larvas de *Spodoptera litura* (F.) (Clemente *et al.* 2003). Ramírez *et al.* (2010) se enfocaron en la efectividad de los extractos de aceites de la familia lamiácea (*Origanum majorana* (L.), *Origanum vulgare* (L.) *Mentha piperita* (L.), entre otras especies), sobre la longevidad de adultos, viabilidad de huevos y desarrollo de larva de *Tecia solanivora* (Povolný) (Lepidoptera: Gelechiidae), siendo el tratamiento de *O. vulgare* el que tuvo mejor respuesta con una tasa de eclosión de huevos menor.

4. CONCLUSIONES

- El extracto de aceite de *Capsicum* a 15 g/L presentó la mortalidad más elevada de todos los extractos a las 264 horas, los tratamientos en su mayoría presentaron medias muy relacionadas, no obstante, el aceite de orégano a 5 g/L y aceite de pimienta negra a 10 g/L presentaron la mortalidad más baja.
- Los extractos de aceite de *Capsicum*, hiedra metanólico y toloache, alcanzaron las mortalidades del 50% a las concentraciones más bajas.
- Los extractos de hiedra metanólico, aceite de *Capsicum* y aceite de orégano alcanzaron las mortalidades del 50% a menores tiempos.

5. RECOMENDACIONES

- Hacer una repetición de este bioensayo utilizando otras larvas del mismo orden y comparar si los efectos respuestas son similares.
- Establecer diferentes Bioformulados utilizando los mejores extractos resultantes en los análisis de la CL₅₀ y TL₅₀.
- Realizar análisis cromatográficos para los mejores extractos resultante y revelar sus componentes mayoritarios, por consiguiente, poder ajustar la relación de proporciones de extracto al momento de hacer los bioformulados.
- Utilizar larvas de diferentes instares y evaluar sus posibles efectos respuesta para cada estadio.
- Establecer el experimento en campo y evaluar los posibles efectos disuasivos (humedad relativa, temperatura, viento, índice de presión de vapor, entre otros), para comparar la efectividad de los bioformulados.
- Realizar una prueba de envejecimiento acelerado, someter los bioformulados a diferentes condiciones de temperatura, y estimar su vida útil en años.

6. LITERATURA CITADA

- Alonso O. 1999. Los insecticidas botánicos: una opción ecológica para el control de plagas. Pastos y forrajes. [consultado el 01 de sep. de 2020]; 22(1): 01- 16. <https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path%5B%5D=993&path%5B%5D=495>
- Bain AS, Forget G, Feola G, Ronco A. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. 1ª ed. México: IMTA, IDRC; [consultado el 27 de abr. de 2020]. https://www.idrc.ca/sites/default/files/openebooks/147-7/index.html#page_18
- Barros EG, Romo H, Monteys VS, Munguira ML, Baixeras J, Moreno AV, García JLY. 2015. Orden lepidoptera. Revista Ide Sea. Madrir (España); [consultado el 26 de abr. de 2020]; (65): 1-21. http://sea-entomologia.org/IDE@/revista_65.pdf
- Bazaoui A, Stambouli H, Bellimam MA, Soulaymani A. 2009. Détermination des alcaloïdes tropaniques des graines du Datura stramonium L. par CPG/SM et CL/SM. En Annales de toxicologie analytique. [consultado el 26 de abr. de 2020]. 21(4): 183-188pp. <https://www.ata-journal.org/articles/ata/abs/2009/05/ata09044/ata09044.html>
- Brogdon, W, Chan A. 2010. Instrucciones para la evaluación de la resistencia a insecticida en vectores mediante del Ensayo Biológico de la botella de los CDC. Atlanta, GA. [consultado el 05 de may. de 2020]; https://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/fsp/ir_manual/ir_cdc_bioassay_es.pdf
- Bruneton J. 1995. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Lavoisier publishing. Paris (France): Lavoisier Publishing; [actualizado en nov. del 2017; consultado el 02 de jul. de 2020]. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19950309485>
- Caballero C. 2004. Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: chrysomelidae) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: noctuidae). [Tesis Doctoral]. Madrid (España): Universidad Complutense de Madrid. [consultado el 01 de sep. de 2020]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=16960>
- Celis Á, Mendoza C, Pachón M, Cardona J, Delgado W, Cuca LE. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. Agronomía Colombiana. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 26(1): 97-106. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/13923>
- Claros JL. 2016. Bioinsecticidas de capsaicinoides y glucosinolatos en el control de los insectos plaga en las plantas de *Spartium junceum* L. (Fabales: Leguminosae). [Tesis]. Huancayo (Perú): Universidad nacional del centro de Perú. [consultado el 22 de jul. del 2020]. <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/4566>
- Clemente SG, Mareggiani A, Broussalis V, Martino G, Ferraro. 2003. Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects. Bol. San.Veg. Plagas. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 29(1): 421-426.

<https://www.researchgate.net/publication/28160513> Insecticidal effects of Lamiaceae species against stored products insects

Deighton N, Glidewell SM, Deans SG, Goodman BA. 1993. Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. *J of Scien of Food and Agr.* [consultado el 20 de abr. de 2020]; 63(2): 221-225 pp. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740630208>

Devine GJ, Eza D, Ogusuku E, Furlong MJ. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Rev peruana de med expl y Salud Pú.* [consultado el 26 de abr. de 2020]; 25(1): 74-100.

<https://www.researchgate.net/publication/255656108> Uso de insecticidas contexto y consecuencias ecológicas

Escobar G. 2016. La relevancia de la agricultura en América Latina y el Caribe. *Rev Nueva Soc.* [consultado el 28 de abr. de 2020]; 73(1): 03-06. <https://nuso.org/media/documents/agricultura.pdf>

Elias R, Lanza AM, Ollivier EV, Balansard G, Faure R, Babadjamian A. 1991. Triterpenoid Saponins from the Leaves of *Hedera helix*. *J of Agr and Food Chem.* [consultado el 17 de jul. del 2020]; 54(1): 98-103. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np50073a006>

[FAO], Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001. Los efectos económicos de las plagas y enfermedades transfronterizas de los animales y las plantas. Roma; [consultado el 24 de abr. de 2020]. <http://www.fao.org/3/x9800s/x9800s00.htm#TopOfPage>

Fellows LE, Evans SV, Nash RJ, Bell EA. 1986. Polyhydroxy plant alkaloids as glycosidase inhibitors and their possible ecological role. En: Fellows LE, editor. *Polyhydroxy Plant Alkaloids as Glycosidase Inhibitors and Their Possible Ecological Role.* [consultado el 01 de sept. de 2020]; 296(1): 72-78. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-1986-0296.ch006>

García SN, Navarro AB. 1995. Comportamiento de los plaguicidas en el medio ambiente. 1ª ed. Madrid (España): Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación; [consultado el 24 de abr. de 2020]. ISBN: 84-491-0265-0 https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1995_09.pdf

Gómez AM. 2015. Estudio de la interacción molecular huésped-patógeno utilizando el modelo insecto-hongo *Gallería mellonella-Fusarium oxysporum*, mediante la caracterización de genes, proteínas y péptidos de defensa provenientes de la respuesta humoral innata y del ataque fúngico. [Tesis]. Colombia: Universidad de Antioquia Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias. [consultado el 26 de abr. de 2020]. http://200.24.17.10/bitstream/10495/3094/1/Mu%c3%b1ozG%c3%b3mezA_2015_EstudoInteraccionMolecular.pdf

Jiménez E. 2009. Métodos de control de plagas. [Tesis]. Managua (Nicaragua) Universidad Nacional Agraria. [consultado el 24 de abr. de 2020]. <https://cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENH10J61me.pdf>

- Koleva, L, Mitrev S, Maksimova V, Spasov D. 2012. Content of capsaicin extracted from hot pepper (*Capsicum* ssp. *microcarpum* L.) and its use as an ecopesticide. Faculty of Agricultural Sciences and Faculty of Medical Sciences, Goce Delcev University. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 67(4):671-675 https://www.researchgate.net/publication/257582302_Content_of_capsaicin_extracted_from_hot_pepper_Capsicum_annuum_ssp_microcarpum_L_and_its_use_as_an_ecopesticide
- Koul O, Shankar JS, Kapil RS. 1996. The effect of neem allelochemicals on nutritional physiology of larval *Spodoptera litura*. *Ent Exp et Appl*, [consultado el 02 de sep. de 2020]; 79(1): 43-50. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00807.x>
- López MAP, Giraldo DMC, Montes HM. 2017. Estudio de la virulencia de especies del género *Candida* en el organismo modelo *Galleria mellonella*. *Jov en la cien*. [consultado el 15 de abr. de 2020]; 2(1): 1993-1997. <http://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/1393>
- Lozano CC, Piña GL, Uribe SL, Mejía EG. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de nutrición*. [consultado el 20 de abr. de 2020]; 54(1): 100-111. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015
- Luna AV, Flores LP, Sobac RD. 2007. Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. *J of Food*. [consultado el 01 de sep. de 2020]; 5(4): 306-313. <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11358120709487705?needAccess=true>
- Mateos RG, Pacheco R, Hernández C, Hernández M. 2004. Toxicidad de alcaloides de *Erythrina* americana en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Rev Fito Mexicana*. [consultado el 24 de abr. de 2020]; 27(4): 297-303 https://www.researchgate.net/publication/26477208_Toxicidad_de_alcaloides_de_Erythrina_americana_en_larvas_de_mosquito_Culex_quinquefasciatus
- Miyoshi H. 1998. Structure–activity relationships of some complex I inhibitors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. [consultado el 01 de sep. de 2020]; 1364(2): 236-244. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272898000309>
- Montgomery DC. 2013. *Design and Analysis of Experiments*. 8ª ed. New York (U.S.): J Wiley & Sons; [consultado el 15 de abr. de 2020]. <http://faculty.business.utsa.edu/manderso/STA4723/readings/Douglas-C.-Montgomery-Design-and-Analysis-of-Experiments-Wiley-2012.pdf>
- Morimoto M, Kumeda S, Komai K. 2000. Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *J of Agr and Food Chem*. [consultado el 20 de abr. de 2020]; 48(5): 1888-1891. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10820110/>
- Morimoto M, Tanimoto K, Nakano S, Ozaki T, Nakano A, Komai K. 2003. Insect antifeedant activity of flavones and chromones against *Spodoptera litura*. *J of Agr and Food Chem*. [consultado el 20 de abr. de 2020]; 51(2): 389-393. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12517100/>

- Pelah D, Abramovich Z, Markus A, Wiesman Z. 2002. The use of commercial saponin from *Quillaja saponaria* bark as a natural larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *J of Ethnoph.* [consultado el 01 de sep. de 2020]; 81(3): 407-409. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12127245/>
- Poter A. 2009. Métodos de prueba de susceptibilidad IRAC 011, *Meligethes aeneus*. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 3(11): 01-05. https://irac-online.org/content/uploads/2009/09/Method_011_v3_june09.pdf
- Poter A. 2012. Métodos de prueba de susceptibilidad IRAC 017, *Cydia pomonella*. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 3(017): 01-03. https://irac-online.org/content/uploads/method_017_v3.9_19Sept121.pdf
- Ramírez JE, Gómez MI, Cotes JM, Núñez CE. 2010. Efecto insecticida de los aceites esenciales de algunas lamiáceas sobre *Tecia solanivora* Povolny en condiciones de laboratorio. *Agronomía Colombiana*. [consultado el 20 de abr. de 2020]; 28(2): 255-263. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/18069/37691>
- Reyes FS, Gaona ML, Hernández LL, Romero I, González FI. 2013. Actividad biológica en campo del extracto etanólico de *Melia azedarach*, *Psidium guajava*, *Datura stramonium*, *Piper auritum* y *Azadirachta indica* a juss sobre la *Diaphorina citri*. *Rev Latinoam de Rec Nat.* [consultado el 27 de abr. del 2020]; 9(1): 22 -29. <https://www.itson.mx/publicaciones/rlrn/Documents/v9-n1-4-actividad-biologica-en-campo-del-extracto-etanolico-de-melia-azedarach-psidium-guajava-datura-stramonium-piper-a.pdf>
- Roe AD, Weller SJ, Baixeras J, Brown J, Cummings MP, Davis D, Simonsen TJ. 2009. Evolutionary framework for Lepidoptera model systems. En: Orfebre M, Marec F, editor. *Genetics and Molecular Biology of Lepidoptera*. Boca Raton, (Florida). 1-24. [consultado el 19 de abr. del 2020]. https://www.researchgate.net/profile/John_Brown75/publication/43289258_Evolutionary_Framework_for_Lepidoptera_Model_Systems/links/5ad5fd2a458515c60f552a89/Evolutionary-Framework-for-Lepidoptera-Model-Systems.pdf
- Rodríguez AMP, Tamayo SS, Estrada DEP. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Rev Cub de Hig y Epid.* [consultado el 20 de abr. del 2020]; 52(3): 372-387. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010
- Salinas E. 2014. La agricultura orgánica como modelo alternativo. In *Tópicos Selectos de Recursos: Desarrollo Sustentable y Finanzas*. Distrito Federal, México. ECORFAN; [consultado el 24 de abr. de 2020]. https://www.ecorfan.org/bolivia/series/Topicos%20selectos%20de%20Recursos_V/Articulo%209.pdf
- Selfa J, Anento JL. 1997. *Plagas agrícolas y forestales*. 1ª ed. Valencia, España: Bol SEA; [consultado el 26 de abr. de 2020]. http://www.sea-entomologia.org/PDF/BOLETIN_20/B20-006-075.pdf

- Silbergeld EK. 1998. Toxicología: herramientas y enfoques. En: Stellman JM, editor. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 3Ed. Madrid (España): Oficina Internacional del Trabajo. 33.1- 33.82. [consultado el 17 de abr. del 2020]. https://www.academia.edu/35672808/TOXICOLOGIA_HERRAMIENTAS_Y_ENFOQUE_ES_Definiciones_y_conceptos
- Suazo G, González F, Urbina A, Pastene E, Sáez K, Serri H, Chávez R. 2012. Actividad insecticida del aceite esencial de *Lepechinia chamaedryoides* (Balb.) Epling en *Drosophila melanogaster*. Gayana. Botánica. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 69(2): 256-266. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-66432012000200005
- Sultana I, Hosokawa C, Nishimura K, Ikeda I, Ozoe Y. 2002. Benzylidene anabaseines act as high-affinity agonists for insect nicotinic acetylcholine receptors. Insect biochem and mol biol. [consultado el 02 de sep. del 2020]; 32(6), 637-643. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0965174801001424>
- Tejeda ÁL, Maciel JCR, Barocio DL, Juan C. 2009. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México. Agrociencia. [consultado el 26 de abr. de 2020]; 43(2): 173-196. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952009000200009
- Terrile R. 2010. Biopreparados para el manejo sostenible de plagas y enfermedades en la agricultura urbana y periurbana. 1ª ed. Lima, Perú: IPES; [consultado el 25 de abr. de 2020]. <http://www.fao.org/3/a-as435s.pdf>
- Villegas MY, Laredo RF, Ruíz JÁ, García M, Díaz LA, Calleros PA. 2019. Eficiencia del extracto vegetal de *Datura stramonium* L. como insecticida para el control de la mosca sierra. Madera y bosques. [consultado el 20 de abr. de 2020]; 25(1): 11. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712019000100210&lng=es&nrm=iso
- Wahyuni Y, Ballester AR., Sudarmonowati E, Bino RJ, Bovy AG. 2013. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. J of nat prod. [consultado el 17 de jul. de 2020]; 76(4): 783-793. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np300898z>
- Wink M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry. [consultado el 02 de sep. de 2020]. 64(1): 3-19. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942203003005>