

Universidad Nacional de Loja Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables Carrera de Agronomía

Evaluación de aceites esenciales para el control de gorgojo (*Zabrotes subfasciatus*) en fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) almacenado.

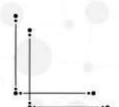
Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniera Agrónoma

AUTOR:

Geovanna Camila Cardenas Tenezaca

DIRECTOR:

Ing. Freddy Eliazar Tinoco Tinoco, M.Sc



Loja – Ecuador

2024

Educamos para **Transformar** ••-

Certificación

Loja, 02 de abril de 2024

Ing. Freddy Eliazar Tinoco Tinoco Mg. Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: Evaluación de aceites esenciales para el control de gorgojo (Zabrotes subfasciatus) en fréjol (Phaseolus vulgaris L.) almacenado, previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma, de la autoría de la estudiante Geovanna Camila Cardenas Tenezaca, con cédula de identidad Nro. 1150181988, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

FIREDOY ELIAZAR
TINOCO TINOCO

Ing. Freddy Eliazar Tinoco Tinoco, M.Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACION

ii

Autoría

Yo, **Geovanna Camila Cardenas Tenezaca**, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:

Cédula de identidad: 1150181988

Fecha: 05/04/2024

Correo electrónico: geovanna.cardenas@unl.edu.ec

Celular: 0967336241

Carta de autorización por parte de la autora para consulta, reproducción parcial o total

y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Titulación.

Yo, Geovanna Camila Cardenas Tenezaca, declaro ser autora del Trabajo de Titulación

denominado Evaluación de aceites esenciales para el control de gorgojo (Zabrotes

subfasciatus) en fréjol (Phaseolus vulgaris L.) almacenado, como requisito para optar por el

título de Ingeniera Agrónoma, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional

de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a

través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en

las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de

Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, suscribo en la ciudad de Loja, a los cinco días del mes de

abril del dos mil veinticuatro.

Firma:

Autor: Geovanna Camila Cardenas Tenezaca

Cédula: 1150181988

Dirección: Urbanización La Banda, Loja, Ecuador.

Correo electrónico: geovanna.cardenas@unl.edu.ec

Celular: 0967336241

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Director del trabajo de Titulación: Ing. Freddy Eliazar Tinoco Tinoco Mg. Sc

iν

Dedicatoria

El presente trabajo investigativo lo dedico primeramente a Dios, y a mi más grande motivación en la vida mi hija Isabella, quien me dio la fuerza para lograr culminar esta etapa de mi vida.

A mi compañero de vida Walter quien ha estado conmigo desde un inicio y siempre me dio su apoyo y ha estado conmigo en las buenas y en las malas, gracias a ti por nunca dejarme caer.

A mis padres Diana y Giovanny por ser mi soporte y un pilar fundamental en mi vida y siempre apoyarme, a mis hermanas Marina y Valentina por siempre estar ahí para mí, por confiar en mí y ver mi capacidad de lograr esta meta, gracias por siempre darme ánimos y su apoyo incondicional.

Geovanna Camila Cardenas Tenezaca

Agradecimiento

Al culminar mi trabajo investigativo quiero agradecer a Dios quien me dio esa fortaleza y sabiduría para lograr cumplir este gran objetivo, a mi familia por siempre estar presentes en mi vida, pero sobre todo gracias a mi hija Isabella y a mi compañero de vida Walter gracias por darme esa gran motivación en la vida y las ganas de salir adelante. Mi sincero agradecimiento a mi suegra quien me ayudo y me apoyo con el cuidado de mi hija Isabella mientras yo cumplía con mis estudios finales, gracias por siempre brindarme palabras de aliento y por su apoyo incondicional.

A la Universidad Nacional de Loja por permitirme formar parte de ella y facilitarme los recursos para lograr culminar mi carrera.

Al Dr. Luis Viteri Jumbo quien me ayudo en un principio para lograr desarrollar este trabajo de tesis, gracias por siempre estar pendiente del equipo de laboratorio BioControl.

A mi director de tesis Ing. Freddy Tinoco M.Sc quien estuvo pendiente de dirigir y ayudarme a culminar mi trabajo de tesis en estos últimos meses.

A mi equipo de laboratorio BioControl gracias por siempre estar dispuestos a ayudarme durante este trabajo de investigación, especialmente a mi compañero Osmany Herrera quien siempre estuvo ahí para ayudarme y brindarme su apoyo.

Geovanna Camila Cardenas Tenezaca

Índice de contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenidos	vii
Índice de figuras	ix
Índice de tablas	x
Índice de anexos	xi
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract	3
3. Introducción	4
4. Objetivos	6
4.1 Objetivo general	6
4.2 Objetivos específicos	6
5. Marco teórico	7
5.1 Fréjol (Phaseolus vulgaris L.)	7
5.1.1 Problemas del almacenamiento del fréjol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	7
5.1.2 Plagas de granos almacenados	8
5.2 Gorgojo (Zabrotes subfasciatus)	8
5.2.1 Ciclo biológico	8
5.2.2 Problemas que ocasiona la plaga Zabrotes subfasciatus	9
5.2.3 Pérdidas económicas	9
5.2.4 Control del gorgojo	9

5.2.5 Formas de control biológico y biomoléculas conve	encional10
5.3 Aceites esenciales	
5.3.1 Toxicidad de aceites esenciales	11
5.3.2 Mecanismos de acción de los aceites esenciales	11
5.3.3 Ajenjo (Artemisia sodiroi)	12
5.3.4 Investigaciones realizadas en Gorgojo (Zabrotes s	ubfasciatus) 12
6. Metodología	13
6.1 Localización del estudio	13
6.2 Insectos y condiciones de crianza	13
6.2.1 Extracción de aceites esenciales	13
6.2.2 Efectos de la exposición letal al aceite esencial de	Ajenjo (<i>Artemisia sodiroi</i>) 13
6.2.3 Actividades de repelencia para adultos de Zabroto	es subfasciatus14
6.2.4 Actividades de proliferación para adultos de Zabi	otes subfasciatus14
6.2.5 Análisis químico y cromatografía de gases del ace	ite esencial de Ajenjo
(Artemisia sodiroi)	15
6.2.6 Análisis estadístico	16
7. Resultados	18
7.1 Toxicidad del aceite esencial de Ajenjo (Artemisia sodia	roi) sobre Zabrotes
subfasciatus	18
7.2 Repelencia del aceite esencial de Artemisia sodiroi a Za	brotes subfasciatus 19
7.3 Tasa instantánea de crecimiento de Zabrotes subfasciar	t us 19
7.4 Análisis químico del aceite esencial de Artemisia sodiro	<i>i</i> 20
8. Discusión	21
9. Conclusiones	24
10. Recomendaciones	25
11. Bibliografía	26
12 Anavos	2.4

Índice de figuras

Figura	1. Toxicidad fumigante del aceite esencial de Artemisia sodiroi para Zabrotes
	subfasciatus gorgojo del fréjol almacenado. Las líneas representan los valores de
	concentración letal (CL) estimados obtenidos en los resultados de concentración -
	mortalidad sometidos a un análisis probit
Figura	2. Porcentaje de adultos de Zabrotes subfasciatus que se desplazaron en fréjol
	almacenado tratado con aceite esencial de Artemisia sodiroi y fréjol no tratado. Cada
	barra evidencia las cinco repeticiones CL5, CL25, CL50, CL75 y CL95 realizadas con el
	aceite esencial
Figura	3. A. Tasa instantánea de crecimiento de la especie Zabrotes subfasciatus. B. pérdida
	de masa del fréjol en todas las concentraciones letales del aceite esencial de Artemisia
	$sodiroi$. las dosis se expresan en $\mu l/l^{-1}$. las barras verticales representan el error estándar
	de la media (se).

Índice de tablas

Tabla 1.	Concentraciones letales estimadas para adultos de Zabrotes subfasciatus	18
Tabla 2.	Composición química del aceite esencial de <i>Artemisia sodiroi</i>	20

Índice de anexos

Anexo 1. Extracción de aceites esenciales.	34
Anexo 2. Ensayo de toxicidad para Zabrotes subfasciatus	35
Anexo 3. Ensayo de repelencia para Zabrotes subfasciatus.	36
Anexo 4. Ensayo de Proliferación para Zabrotes subfasciatus	36
Anexo 5. Certificado de traducción del abstract.	37

1. Título

Evaluación de aceites esenciales para el control de gorgojo (*Zabrotes subfasciatus*) en fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) almacenado.

2. Resumen

El gorgojo Zabrotes subfasciatus (Boheman) (Coleoptera; Bruchidae), es una de las principales plagas del fréjol (Phaseolus vulgaris L.) ocasiona daños en los granos almacenados, producen daños a los cotiledones, los granos son cubiertos de huevos y presentan perforaciones que corresponden a las cámaras de alimentación de los insectos, lo que causa una significativa pérdida de peso del grano. Para controlar y disminuir estos perjuicios causados por estos insectos actualmente y en varios países emplean el control químico el cual es dañino en la salud humana y causa contaminación ambiental, sin embargo, el uso de aceites esenciales extraídos de plantas con compuestos activos son una herramienta sostenible para el manejo de plagas de granos almacenados. En la presente investigación se realizó la extracción del aceite esencial de Artemisia sodiroi, se evaluaron sus actividades de mortalidad, repelencia y proliferación contra Zabrotes subfasciatus. El análisis químico mediante cromatografía de gases realizado al aceite esencial determino que sus principales compuestos químicos son cis-Chrysanthenol (48,75 %), 1, 8-Cineole (15,54 %) y α-Pinene (7,15 %). El aceite esencial de *Artemisia sodiroi* revelo que es tóxico contra adultos de Zabrotes subfasciatus en las diferentes concentraciones (5 % [CL₅], 25 % [CL₂₅], 50 % [CL₅₀], 75 % [CL₇₅] y 95 % [CL₉₅]). Artemisia sodiroi logro repeler al gorgojo adulto en todas las concentraciones (CL) ya que existe una diferencia significativa. La proliferación de Zabrotes subfasciatus revelo que en la reproducción existe una incidencia significativa entre el control y la aplicación de una concentración letal, en la pérdida de masa de fréjol existe mayor pérdida de grano en las concentraciones distintas a la CL₉₅, las mismas que mostraron diferencia estadística con respecto al control. Por lo tanto, se concluye que esta investigación realizada puede ser una herramienta para futuros estudios en manejo de plagas de granos almacenados.

Palabras clave: Aceite esencial, mortalidad, repelencia, proliferación.

Abstract

The weevil Zabrotes subfasciatus (Boheman) (Coleoptera; Bruchidae), is one of the main pests of beans (Phaseolus vulgaris L.) causing damage to stored grains, causing damage to the cotyledons, the grains are covered with eggs and have perforations that correspond to the feeding chambers of the insects, which causes a significant loss of weight of the grain. To control and reduce the damage caused by these insects, chemical control is currently used in several countries, which is harmful to human health and causes environmental contamination. However, the use of essential oils extracted from plants with active compounds is a sustainable tool for managing stored grain pests. In the present research, the essential oil of Artemisia sodiroi was extracted and its mortality, repellency and proliferation activities against Zabrotes subfasciatus were evaluated. The chemical analysis by gas chromatography performed on the essential oil determined that its main chemical compounds are cis-Chrysanthenol (48,75 %), 1, 8-Cineole (15,54 %) and α -Pinene (7,15 %). The essential oil of *Artemisia sodiroi* revealed that it is toxic against adults of Zabrotes subfasciatus at the different concentrations (5 % [LC₅], 25 % [LC₂₅], 50 % [LC₅₀], 75 % [LC₇₅] and 95 % [LC₉₅]). Artemisia sodiroi was able to repel adult weevils at all concentrations (CL), since there was a significant difference. The proliferation of Zabrotes subfasciatus revealed that in reproduction there is a significant incidence between the control and the application of a lethal concentration, in the loss of bean mass there is a greater loss of grain in the concentrations other than CL95, which showed a statistical difference with respect to the control. Therefore, it is concluded that this research can be a tool for future studies in the management of stored grain pests.

Key words: Essential oil, mortality, repellency, proliferation.

3. Introducción

El fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) es una especie de gran importancia, debido a que es de las leguminosas más consumidas por su composición nutricional, es una fuente rica en proteínas, minerales como calcio, hierro, fósforo, magnesio y zinc y las vitaminas tiamina, niacina y ácido fólico (*Calero-Hurtado et al., 2018*). Es una especie económicamente importante en la agricultura y se produce en Ecuador, Brasil, India, Estados Unidos, China y México (*Oscco Huillea, 2019*). El fréjol (*P vulgaris* L.) en Ecuador es una especie de gran importancia porque es uno de los alimentos más populares y su valor nutricional es comparable al de la carne roja en cuanto a su valor disponible, contenido de grasas y proteínas. El grano de este cultivo es de gran consumo en la población, debido a que es fuente de ingreso para pequeños y medianos productores, es una leguminosa de mayor superficie de cultivo y consumo, tiene un alto contenido de humedad en los forrajes secos y se cosecha antes de la madurez fisiológica. El área promedio total cosechada de esta leguminosa en los últimos cinco años fue de 22 186 ha, de las cuales 3 410 ha fueron de fréjol arbustivo y 18 776 ha fueron de fréjol (*Fiallos et al., 2013*).

Actualmente, la agricultura se enfrenta a grandes problemas como la pérdida de alimentos por la invasión de plagas. Estos dañan los cultivos, las cosechas y el almacenamiento de granos. En el almacenamiento de granos, las mayores pérdidas surgen por problemas relacionados con las condiciones de almacenamiento y la presencia de insectos en el grano almacenado, lo que se traduce en pérdida de la calidad del grano tanto para el consumo humano como para el posterior uso de la semilla (Oscco Huillca, 2019).

La especie *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera; Bruchidae) es una de las principales plagas que afectan al fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.), que se distribuye en regiones de América Central y del Sur y se presenta en climas templados. Pueden causar varios daños, incluido el daño principal que causan cuando ponen huevos en la cubierta de semillas de semillas almacenadas. La etapa larvaria se desarrolla dentro del grano y construye un nido (*Herrera et al.*, 2013).

El uso de pesticidas sintéticos de amplio espectro es el método más común para controlar esta plaga, y su uso generalizado ha provocado resistencia a los pesticidas, contamina el medio ambiente y daña la salud humana (Ortega-Nieblas et al., 2014). A pesar de las aplicaciones excesivas de productos químicos para el control de plagas en varias ocasiones, se han generado ataques devastadores por algunos insectos que no pudieron ser controlados. El costo elevado

dentro de la economía de producción, junto con las pérdidas cuantiosas por plagas fuera de control, ha representado serias limitaciones para este cultivo, las aplicaciones continuas de productos tóxicos plantean riesgos severos a la salud de los operarios agrícolas y de los consumidores. así como graves problemas de contaminación de suelos y aguas (<u>T. Chirinos et al., 2020</u>).

Las plantas aromáticas y sus aceites esenciales se han utilizado durante mucho tiempo no solo por su sabor y aroma, sino también como agentes antibacterianos e insecticidas, como repelentes de insectos y para la protección de productos en conserva. Son amigables con el medio ambiente, una alternativa efectiva a los pesticidas sintéticos y son biodegradables por lo que no persisten en el medio ambiente (Oscco Huillca, 2019).

Para controlar el ataque de estos insectos existen los métodos de control naturales, como el uso de aceites esenciales, lo cual es una alternativa recuperada de la agricultura de subsistencia, en diversas investigaciones han demostrado actuar como repelente, antibacteriano, antifúngico y antimicrobiano, regulador de crecimiento e insecticida, tanto en adultos como en larvas, es esencial la búsqueda de alternativas naturales y en este contexto, los aceites esenciales constituyen una valiosa opción ya que muchos de sus componentes son considerados insecticidas de riesgo mínimo (Armenta-López et al., 2021).

El manejo y control de *Zabrotes subfasciatus* mediante el uso de sustancias de origen vegetal se ha aplicado en muchos países de América Latina, África y Asia, en forma de polvos, extractos y aceites, estos bioinsecticidas se obtienen fácilmente mediante métodos de maceración, varios exhiben eficacia contra varias especies de insectos, incluida la mortalidad, la repelencia, la inhibición de la oviposición y la reducción del desarrollo larvario (da Costa et al., 2014).

El género *Artemisia* corresponde a la subtribu Artemisiinae de la tribu Anthemidae de la familia Asteraceae y comprende más de 500 especies, las cuales se distribuyen por todo el mundo, principalmente en las zonas de Europa, Asia oriental, América, África del Norte y Australia. Las plantas de este género son hierbas o pequeños arbustos y semiarbustos anuales, bienales y perennes. Estas plantas se utilizan como materia prima debido a la presencia de aceites esenciales, flavonoides y lactonas sesquiterpenoides y sus actividades biológicas asociadas (Ekiert et al., 2020). Ante lo expuesto y destacando el potencial de esta planta, para la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

• Identificar el aceite esencial con potencial insecticida para el control de gorgojo (*Zabrotes subfasciatus*) en fréjol (*Phaseolus vulgaris*) almacenado.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar las dosis letales del aceite esencial para el control de gorgojo (Zabrotes subfasciatus).
- Evaluar el efecto repelente del aceite esencial para el control de gorgojo (Zabrotes subfasciatus).
- Determinar el efecto del aceite esencial en la proliferación de gorgojo (Zabrotes subfasciatus).

5. Marco teórico

5.1 Fréjol (Phaseolus vulgaris L.)

El fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es originario de América y globalmente disperso debido a su amplia adaptación, el cual se ha convertido en una leguminosa de grano y vegetal importante a escala mundial, esta especie se desarrolla mejor en temperaturas de crecimiento moderadas (>10 °C y <30 °C) aproximadamente con 400 mm de precipitación durante la temporada de crecimiento, se encuentra en todas las regiones de cultivo templadas donde la época permite un crecimiento libre de heladas de 60 a 120 días, así como en las tierras altas tropicales con temperaturas de crecimiento <30 °C (<u>Myers & Kmiecik, 2017</u>).

El fréjol tiene una gran importancia alrededor de todo el mundo esto es gracias a que es relativamente fácil de producir, es sabroso y versátil en su preparación, y es una buena fuente de nutrición, el fréjol seco crudo contiene aproximadamente un 22 % de proteína, varios micronutrientes (Ca, Fe, Mg, P y K), carbohidratos complejos (62 %), fibra soluble (15 %) y es una fuente importante de folato, como verdura, las vainas inmaduras tienen un alto contenido de humedad, con vainas crudas que contienen aproximadamente 1,9 % de proteína y 7 % de carbohidratos, y cantidades significativas de vitamina C, carotenoides y vitamina K, de las que carecen los fréjoles secos, el fréjol común es particularmente importante para el mundo en desarrollo porque proporciona una fuente de proteínas, calorías y nutrientes traza a las personas que no pueden pagar fuentes de nutrición más costosas (Myers & Kmiecik, 2017).

El fréjol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las especies vegetales de mayor importancia socioeconómica en el mundo debido a su amplio uso en la dieta humana, en algunos países de África y América, como Brasil y México, el fréjol común representa la principal fuente de proteínas, vitaminas y minerales esenciales para el ser humano. Brasil es uno de los mayores productores mundiales de fréjol común, con una producción anual de aproximadamente 2,6 millones de toneladas y un rendimiento medio de 1400 kg/ha, la variabilidad genética de esta especie es muy amplia, considerando varios aspectos como la forma, el tamaño y el color de los granos de fréjol común, lo que conduce a una gran cantidad de clases comerciales distintas (*Pereira et al.*, 2019).

5.1.1 Problemas del almacenamiento del fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Los problemas ocasionados por las principales plagas del fréjol almacenado son varios entre ellos los problemas económicos, ya que, los granos afectados pierden parcial o totalmente su valor comercial, se produce pérdida del peso, disminución de la capacidad germinativa y

disminución de su valor nutritivo, estos insectos dejan restos de heces e individuos que mueren durante el desarrollo en los granos, se produce la entrada de hongos y otros patógenos que disminuyen también la calidad del grano, por lo que se rechazan para el consumo humano (Armenta-López et al., 2021).

Los gorgojos son los más dañinos a nivel mundial, debido a que ocasionan pérdidas superiores al 20 % de la producción en fréjol, ya que se alimentan de los cotiledones de la semilla y hacen orificios que sirven de entrada a agentes patógenos, factores que reducen la calidad del grano e imposibilita su consumo y comercialización, al ser afectada la calidad fisiológica de la semilla como consecuencia de estos daños se reduce la cantidad de reservas y la capacidad germinativa (Armenta-López et al., 2021).

5.1.2 Plagas de granos almacenados

Las principales plagas que atacan al fréjol almacenado son el gorgojo pinto (*Zabrotes subfasciatus*) y el gorgojo pardo (*Acanthoscelides obtectus*) (Armenta-López et al., 2021). Estas especies de gorgojos del fréjol son insectos plaga cosmopolitas que se alimentan del fréjol común silvestre y cultivado, estas especies son de origen neotropical y posteriormente se extendieron a África, Asia y Europa, a pesar que ambas especies exhiben un rango similar de desarrollo, tamaño y proporción de sexos, las hembras de *A. obtectus* ponen sus huevos sueltos y la larva del primer intar excava en el fréjol, mientras que las hembras de *Zabrotes subfasciatus* adhieren sus huevos al fréjol y la larva penetra el fréjol desde el interior del huevo sin exposición externa (Vilca Mallqui et al., 2013).

5.2 Gorgojo (*Zabrotes subfasciatus*)

El gorgojo del fréjol *Zabrotes subfasciatus* (Boheman), orden Coleóptera, familia *Chrysomelidae*, subfamilia Bruchinae, ocasiona el deterioro del grano de fréjol como consecuencia del ataque de estos insectos que sucede cuando las larvas se alimentan de las semillas, causando daños a los cotiledones, los granos son cubiertos de huevos y presentan perforaciones que corresponden a las cámaras de alimentación de los insectos, lo que causa una significativa pérdida de peso (Suazo, 2019). *Zabrotes subfasciatus* se considera una plaga importante de los granos almacenados y también se encuentra en climas templados y fríos (da Costa et al., 2014).

5.2.1 Ciclo biológico

Esta especie de insectos del grano almacenados son de tamaño pequeño de 2-5 mm, algunos miden de 8-12 mm, poseen alas y tienen una alta tasa de ovoposición 150 huevos/hembra y su

ciclo biológico es de pocas semanas 28 – 30 días. Estos insectos necesitan de poca humedad, la cual extraen de los alimentos que consumen, y bajos niveles de oxígeno para sobrevivir (Pizarro, 2015).

5.2.2 Problemas que ocasiona la plaga Zabrotes subfasciatus

Los daños que provocan estos insectos al ingresar a los granos, dan como resultado pérdida de peso, disminución del valor nutricional, pérdida de poder germinación de las semillas, reducción del grado de higiene del producto debido a la presencia de huevos, larvas, galerías e insectos, además de favorecer la entrada y desarrollo de patógenos (Araújo, 2021). Zabrotes subfasciatus es una plaga cosmopolita que ocasiona gran daño a los granos almacenados debido a que ataca los cotiledones, esta plaga es capaz de destruir completamente los núcleos, además de la presencia de huevos en los granos, de galerías larvarias, de agujeros de emergencia de adultos, excrementos e insectos muertos afecta la calidad del producto, el ataque de los adultos de Zabrotes subfasciatus afecta la calidad del fréjol tanto para uso culinario como para la siembra, ya que, la alimentación también destruye el embrión de la semilla (da Costa et al., 2014).

5.2.3 Pérdidas económicas

El gorgojo *Zabrotes subfasciatus* causa perdidas cualitativas y cuantitativas más significantes en las semillas de fréjol común almacenado, ocasionando daños estimados en un 38 % con una pérdida de peso equivalente de alrededor del 3,2 %. La semilla de fréjol también forma parte de las perdidas, debido a que esta plaga ocasiona daños que afectan la siembra debido a la mala germinación, lo cual no sirve ni para alimento o forraje, las perdidas también afectan las ganancias debido a que los agricultores se encuentran en la obligación de vender los fréjoles a precios muy bajos inmediatamente después de la cosecha o con algún precio más bajo solo en las semillas afectadas (Tigist et al., 2017).

5.2.4 Control del gorgojo

Para controlar esta especie existen diferentes tipos de control entre estos está el control químico el cual es eficaz para los pequeños productores, el acceso a esta práctica se dificulta por el costo y los potenciales problemas de toxicidad de algunos insecticidas. Las técnicas alternativas para controlar los gorgojos han recibido una atención cada vez mayor, incluidas las variedades de fréjoles resistentes al crecimiento, el enfriamiento artificial, el polvo inerte, los enemigos naturales, los aceites y polvos de los repelentes y otros métodos de manejo integrado para las plagas de insectos (da Costa et al., 2014). El uso inadecuado del control químico ha

causado consecuencias negativas, como la contaminación ambiental, la intoxicación humana y animal y rastros de residuos tóxicos en granos, la resistencia de las plantas es uno de los principales problemas ocasionados por el uso de productos químicos, este método de control es usado debido a que es una medida de bajo costo y fácil de usar que es compatible con otras técnicas de medición (Araújo, 2021).

5.2.5 Formas de control biológico y biomoléculas convencional

El uso de bioinsecticidas para el control de *Zabrotes subfasciatus* mediante el uso de sustancias de origen vegetal se ha aplicado en muchos países de América Latina, África y Asia, en forma de polvos, extractos y aceites. Estos bioinsecticidas se obtienen fácilmente mediante métodos de maceración, algunos bioinsecticidas exhiben eficacia contra varias especies de insectos, incluida la mortalidad, la repelencia, la inhibición de la oviposición y la reducción del desarrollo larvario (da Costa et al., 2014). Para afrontar este problema, se han empezado a implementar en uso de insecticidas naturales basados en productos derivados de plantas como enfoques adecuados para el manejo del gorgojo. Los aceites esenciales han recibido especial atención debido a sus funciones biológicas naturales como actividad fungicida, bactericida e insecticida y actúan alterando las funciones neurofisiológicas del insecto (Bernardes et al., 2018).

5.3 Aceites esenciales

Investigaciones apuntan que encontrar nuevos compuestos con mayor selectividad, menor persistencia ambiental y una variedad de modos de acción, es indispensable para una nueva generación de estrategias de control. Los metabolitos de las plantas y los aceites esenciales poseen estas características y presentan riesgos sustancialmente menores que los de los insecticidas químicos tradicionales, los productos vegetales naturales se han propuesto a nivel mundial como una alternativa para el control de ácaros e insectos plaga. Diversos estudios han demostrado el potencial insecticida de los aceites esenciales y su capacidad para interrumpir el desarrollo de los insectos a través de la interferencia del sistema nervioso de los insectos: transmisiones andaminérgicas, transmisiones GABAérgicas e inhibición de las acetilcolinesterasas (Rodríguez-González et al., 2019).

Los aceites esenciales son sustancias de origen vegetal, sus mezclas de metabolitos secundarios volátiles, insolubles en agua, les brindan características especiales según sus diferentes proporciones. Se originan en los tejidos secretores de las plantas y son líquidos a temperatura ambiente, más ligeros que el agua, de olor fuerte y penetrante que recuerda su

planta de origen, e incoloros o de color amarillo traslúcido. Su función es variada en las plantas, ya que, son agentes de polinización y sirven de reserva y de protección, debido a que defienden a la planta de otras plantas, de algunos insectos y de microorganismos (Andrade-Ochoa et al., 2017).

5.3.1 Toxicidad de aceites esenciales

Los compuestos fenólicos carvacrol, timol, eugenol y vainillina son cuatro de los componentes de aceites esenciales más investigados debido a sus propiedades biológicas relevantes, estos compuestos se consideran seguros para el consumo y se han utilizado en una amplia gama de aplicaciones alimentarias y no alimentarias. Se han descrito para estos componentes propiedades biológicas significativas, que incluyen actividad antimicrobiana, antioxidante, analgésica, antiinflamatoria, antimutagénica o anticancerígena (Andrade-Ochoa et al., 2017; Fuentes et al., 2021).

5.3.2 Mecanismos de acción de los aceites esenciales

La rápida acción de los aceites esenciales sobre muchas especies de plagases debido a que actúan en el sistema nervioso de los insectos, se han identificado varios receptores putativos diferentes para terpenoides de aceites esenciales, incluidos receptores para octopamina, canales de cloruro activados por ácido gamma-aminobutírico (GABA) y acetilcolina nicotínica, así como para acetilcolina esterasa, la evidencia de interferencia con los receptores de octopamina talvez es la más convincente, pero el tamaño pequeño y la amplia gama de estructuras químicas entre los terpenoides de aceites esenciales apunta que múltiples sitios y mecanismos de acción pueden verse afectados simultáneamente, los aceites tienden a ser fácilmente absorbidos por los insectos al contacto. La naturaleza volátil de los aceites esenciales y sus componentes hacen que muchos de ellos sean fumigantes efectivos en espacios cerrados (Isman, 2020).

Los efectos que ocasionan sobre el comportamiento de las plagas también pueden desempeñar un papel en la protección de los cultivos hortícolas, esto es cuando se rocían sobre las plantas, los aceites esenciales tienden a tener una acción residual mínima como insecticidas de contacto, pero existe evidencia en el campo de que las plagas pueden ser disuadidas o repelidas durante mucho más tiempo después de la aplicación, las tecnologías de formulación que reducen la volatilización de las superficies podrían mejorar este uso particular de los aceites esenciales (Isman, 2020).

5.3.3 Ajenjo (Artemisia sodiroi)

El género Artemisia está entre los géneros más grandes y de mayor distribución de la familia Asteraceae, el cual contiene aproximadamente 500 taxones (Malik et al., 2019). Artemisia un gran género de la familia Asteracae el cual ha sido sometido a diversos estudios químicos y biológicos, incluidas propiedades insecticidas contra plagas de productos almacenados (Titouhi et al., 2017). Artemisa es una planta perenne, es muy conocida por sus características aromáticas y posee múltiples aplicaciones medicinales, como menstrual, nervina, digestiva, diurética y diaforética, aromatizante alimentario y repelente de insectos. Las partes aéreas de la planta Artemisa producen un aceite con contenidos que varían entre el 0,1 % y el 1,4 %. Este aceite esencial se compone principalmente de β -pineno, α -pineno, alcanfor y 1,8-cineol, tiene diversas aplicaciones, entre ellas como antioxidante, antibacteriano, antifúngico y aromatizante (Anwar et al., 2016).

5.3.4 Investigaciones realizadas en Gorgojo (Zabrotes subfasciatus)

Se han realizado diversos experimentos en el control del gorgojo (*Zabrotes subfasciatus*) con diferentes aceites esenciales, demostrando la capacidad insecticida de estos aceites contra esta plaga que ocasiona grandes daños económicos en el fréjol. En una investigación realizada se evaluó la efectividad del aceite *Chenopodium. ambrosioides* (Chenopodiaceae), *Ocimum. gratissimum* (Lamiaceae) y *Schinus. terebinthifolius* (Anacardiaceae), previamente se ha demostrado que los estos aceites muestran una actividad insecticida interesante contra algunas plagas de insectos (Abiodun et al., 2010; Nguemtchouin et al., 2013), se evaluó la efectividad en la actividad de toxicidad mediante fumigación y actividad de repelencia, en donde todos los aceites esenciales evaluados mataron el 100 % de *Zabrotes subfasciatus*, la cual como ya se menciono es una de las principales plagas que causan pérdidas de grano almacenado, estos aceites presentaron los valores más bajos de dosis letales y fueron los más activos en las pruebas de actividad repelente (Bernardes et al., 2018).

Otro estudio ha reportado que el aceite de semilla de uva (*Vitis vinifera*) y del aceite de canola (*Brassica napus*) sobre *Zabrotes subfasciatus* en fréjol almacenado es tóxico y repelente en las dosis probadas en las cuales se realizaron pruebas de contacto con el fin de determinar los niveles letales de las dosis, en la prueba de repelencia se observó el número de insectos atraídos en las mismas concentraciones letales en la cual observaron la reducción en el número de huevos y emergencia, ambos aceites fueron eficientes en el control de *Zabrotes subfasciatus* (Silva et al., 2023).

6. Metodología

6.1 Localización del estudio

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de entomología de la Universidad Nacional de Loja (UNL), ubicada en el sector La Argelia en el sur de la ciudad de Loja – Ecuador, a 4° 02' 07" S, 79° 12' 11,2" O, a una altitud de 2150 m.s.n.m.

6.2 Insectos y condiciones de crianza

La población original de *Zabrotes subfasciatus* se inició en el laboratorio de entomología de la Universidad Nacional de Loja (4° 02' 07" S, 79° 12' 11,2" O). Se seleccionaron los gorgojos vivos en estado adulto y fueron colocados en frascos de vidrio conteniendo fréjol (*Phaseolus vulgaris*) libres de pesticidas. Previo a ser ofrecido a los gorgojos, el fréjol se mantuvo en refrigeración por 8 días. Cada frasco fue cubierto con tela organza para permitir el intercambio gaseoso. Los frascos se mantuvieron en condiciones de laboratorio (23 ± 3 °C 12 h luz y 65 ± HR) (*Pizarro*, 2015).

6.2.1 Extracción de aceites esenciales

Se recolecto material vegetal de plantas seleccionadas que se encontraban libres de aplicación de insecticidas. Se usaron plantas que son consideradas con potencial insecticida realizando previamente una revisión bibliográfica como; *Artemisia sodiroi*, *Ocotea quixos*, entre otras. La extracción se llevó a cabo mediante el método de hidrodestilación descrito por (Jumbo et al., 2022; León Méndez et al., 2015). La muestra mezclada con agua se hirvió para evaporar los componentes volátiles, después se obtuvieron dos capas (acuosa y rica en aceite) y se obtuvo el aceite, el cual se separó mediante un embudo de decantación (Valarezo et al., 2021). Posteriormente de ser extraídos los aceites esenciales se envasaron en frascos ámbar protegidos de la luz y almacenados en refrigeración. La extracción se realizó en el laboratorio de Bioquímica aplicada de la Universidad Técnica Particular de Loja mediante un equipo de hidrodestilación del tipo Clevenger con un tiempo de extracción de 3 horas (León Méndez et al., 2015).

6.2.2 Efectos de la exposición letal al aceite esencial de Ajenjo (Artemisia sodiroi)

Se determino la toxicidad fumigante del aceite esencial de *Artemisia sodiroi* para *Zabrotes subfasciatus*. Se utilizó la metodología descrita previamente por (<u>Jumbo et al., 2022</u>). Se colocaron 30 adultos de *Zabrotes subfasciatus* de 1 a 3 días de edad sin sexar en cada frasco, se utilizaron frascos de vidrio con capacidad de 250 ml (unidad experimental) con 100 gramos de fréjol sin tratar en cada uno.

Se aplicaron dosis puras del aceite esencial de *A. sodiroi* (5 % [CL₅], 25 % [CL₂₅], 50 % [CL₅₀], 75 % [CL₇₅] y 95 % [CL₉₅]) con una pipeta en pedazos de papel filtro (2 cm²) impregnados uniformemente con aceite esencial de *A. sodiroi*. Se unieron a un alambre de algodón que se conectó a la parte interna de la tapa del recipiente. Los frascos de vidrio se sellaron con una tapa metálica de rosca y se aplicó silicón trasparente alrededor de la tapa para sellar los frascos. Todas las unidades experimentales se mantuvieron en condiciones controladas (23 \pm 3 °C 12 h luz y 65 \pm HR) durante 24 horas. Para cada dosis de aceite esencial se realizaron 5 repeticiones y un control con fréjol sin tratar. La mortalidad se evaluó después del periodo de exposición y se consideró muertos los insectos solo si no podían moverse a una distancia al menos igual a la longitud de su cuerpo (González-Guiñez et al., 2016).

6.2.3 Actividades de repelencia para adultos de Zabrotes subfasciatus

Se realizó en un aparato que consta de 5 recipientes circulares de plástico con un recipiente central (E) conectado a los otros cuatro recipientes (A, B, C, D) mediante cilindros de plástico como se describe previamente por (Mazzonetto & Vendramim, 2003; Viteri Jumbo et al., 2014). Los recipientes A y B se dispusieron en diagonal y se llenaron con 100 gramos de fréjol tratados con el aceite esencial de *A. sodiroi* en las diferentes concentraciones letales obtenidas previamente en los bioensayos de toxicidad (5 % [CL₅], 25 % [CL₂₅], 50 % [CL₅₀], 75 % [CL₇₅] y 95 % [CL₉₅]). Los recipientes C y D se llenaron con 100 gramos de fréjol sin tratar. En el recipiente central se liberaron 50 adultos no sexados de *Zabrotes subfasciatus* (<24 h de edad). Los ensayos se mantuvieron en condiciones de laboratorio (23 ± 3 °C 12 h luz y 65 ± HR). Transcurridas las 24 horas se registró el número de insectos por recipiente. Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones.

El porcentaje de repelencia se calculó según lo descrito por (Mazzonetto & Vendramim, 2003): RI = $(2 \times T)/(T + C) \times 100$, donde RI = Índice de repelencia, C = número de insectos en el con recipientes, y T = número de insectos en el recipiente tratado. Los valores de RI indica la actividad: RI = 1 actividad neutra; RI > 1 atractivo y RI < 1 repelencia. Como margen de seguridad para esta clasificación, se suma/resta la desviación estándar (DE) de cada tratamiento a un valor de 1 (indicativo de neutralidad).

6.2.4 Actividades de proliferación para adultos de Zabrotes subfasciatus

La tasa de desarrollo y el crecimiento de las poblaciones se usaron para estimar los efectos del aceite esencial de *A. sodiroi* en el desarrollo biológicos de *Zabrotes subfasciatus*. Los bioensayos sobre la tasa instantánea de aumento y pérdida de grano se realizaron utilizando

frascos de vidrio con capacidad de 250 ml con 100 gramos de fréjolsin tratar. Las masas de fréjolse trataron con dosis letales de aceite esencial de *A. sodiroi* (en (5 % [CL₅], 25 % [CL₂₅], 50 % [CL₅₀], 75 % [CL₇₅] y 95 % [CL₉₅]), que se basaron en los resultados concentración – mortalidad que se obtuvieron previamente. Se liberaron 30 insectos adultos (15 hembras y 15 machos) de *Zabrotes subfasciatus* de 1 a 3 días de edad sin sexar y se dejó colonizar el fréjol durante 40 días en condiciones controladas (23 ± 3 °C 12 h luz y 65 ± HR). Posteriormente de este periodo, se registró el número total de insectos vivos (adultos) y el peso del fréjol en cada unidad experimental. Se realizó cinco repeticiones de cada dosis y un control, el tratamiento control no recibió ninguna aplicación de aceite esencial. La tasa instantánea de aumento se calculó utilizando la respectiva ecuación RI= [ln(Nf/Ni)]/T, donde Nf y Ni son los números finales e iniciales de insectos vivos (adultos), respectivamente, y T es la duración del experimento en días (Viteri Jumbo et al., 2014).

Los bioensayos para el crecimiento de la población se realizaron utilizando los mismos procedimientos experimentales descritos anteriormente, con la excepción que los 30 adultos de *Zabrotes subfasciatus* que se liberaron en cada frasco fueron retirados 15 días después, siguiendo el método descrito por (<u>Trematerra et al., 1996</u>). La progenie de los adultos *Zabrotes subfasciatus* obtenidos de los fréjoles fue evaluada la emergencia diaria y acumulada cada dos días. Los datos se registraron y los datos acumulados se normalizaron según lo sugerido por (<u>Gonzales Correa et al., 2015</u>; <u>Trematerra et al., 1996</u>).

6.2.5 Análisis químico y cromatografía de gases del aceite esencial de Ajenjo (*Artemisia sodiroi*)

6.2.5.1 Análisis cuantitativo

El análisis cuantitativo se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a un detector de ionización de llama (GC-FID), para el cual se utilizó una cromatografía de gases Thermo Scientific (Trace 1310, Waltham, MA, USA), un detector de ionización de llama (FID), una columna de GC no polar (TRACE TR-5) fase estacionaria 5 % fenilmetil polisiloxano, 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro y 0,25 μm de espesor de capa estacionaria) y un inyector automático (AI 1310, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Para la preparación de la muestra, se inyectó 1 μL de solución (1/100, v/v, EO/DCM), con una proporción dividida de 1:50. Se utilizó helio como gas portador a 1 ml/min en modo de flujo constante y a una velocidad media de 25 cm/s. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 230 °C. El programa de temperatura del horno incluyó una isoterma inicial de 50 °C durante 3 min, seguida

de una rampa de temperatura a 230 °C a 3 °C/min (60 min) y una isoterma final durante 3 min (tiempo total de funcionamiento 66 min). Las cantidades relativas de los compuestos se calcularon en función del área de pico de GC (respuesta FID) sin utilizar un factor de corrección (Valarezo et al., 2021).

6.2.5.2 Análisis cualitativo

El análisis cualitativo se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para lo cual se utiliza el mismo equipo que en el análisis cuantitativo, a excepción del detector que fue reemplazado por un detector de espectrómetro de masas (MS) (cuadrupolo) (ISQ 7000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Concentración y temperaturas de la muestra (rampa, inyector y detector) fueron los mismos que para los análisis cualitativos. Se utilizó helio como gas portador a 0,9 ml/min en modo de flujo constante y a una velocidad media de 34 cm/s. Las condiciones de funcionamiento de la EM eran las siguientes: multiplicador de electrones 1600 eV, 70 eV, rango de masa 40-350 m/z y velocidad de barrido 2 scan/s. Ecuación 1(van Den Dool & Dec. Kratz, 1963). Se utilizó para determinar el índice de retención (IR) de cada compuesto. Para la identificación de los compuestos, se compararon los espectros IR y de masas con datos publicados (Adams, 2017).

$$RI = 100C + 100 \frac{(RTx - RTn)}{(RTN - RTn)}$$

Donde, C es el número de carbonos de los hidrocarburos alifáticos (C₉ a C₂₅) que eluyen antes del compuesto de interés. RT es el tiempo de retención de x compuesto de interés, n hidrocarburos alifáticos que eluyen antes del compuesto de interés y N hidrocarburos que eluyen después del compuesto de interés.

6.2.6 Análisis estadístico

Las curvas de dosis – mortalidad se estimaron en análisis Probit utilizando el procedimiento PROC PROBIT (SAS & Guide, 2002). La actividad insecticida diferencial del aceite esencial de A. sodiroi se calculó a partir de sus valores estimados de CL_{50} . Se divide el valor de CL_{50} obtenido para el aceite esencial y los límites de confianza del 95 % de estas estimaciones de la relación de toxicidad se consideraron significativamente diferente si es (P < 0.05) si no incluye en valor 1 (Viteri Jumbo et al., 2014).

Mediante el uso del procedimiento de ajuste de curvas de SigmaPlot 2000 (Bertrand, 2000; Chen et al., 2013). Se llevó a cabo una regresión lineal para evaluar los efectos del aumento de las dosis letales del aceite esencial en el RI de Zabrotes subfasciatus. Los conjuntos de datos

de emergencia diarios y acumulativos se sometieron a análisis no lineales, análisis de regresión. Se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza (<u>Viteri Jumbo et al., 2014</u>).

7. Resultados

7.1 Toxicidad del aceite esencial de Ajenjo (Artemisia sodiroi) sobre Zabrotes subfasciatus

En los bioensayos de dosis – respuesta se obtuvieron los niveles de mortalidad para Zabrotes subfasciatus los cuales se ajustaron de forma satisfactoria al modelo probit. Las pruebas de ajuste evidenciaron los valores de χ^2 [1,72] y los valores de P altos [> 0,63], con lo que se pudo establecer las concentraciones letales (CL) para adultos de Zabrotes subfasciatus (Figura 1). La CL_{50} de Artemisia sodiroi fue de 14,87 [14,29 – 15,56] μ L/L⁻¹ siendo tóxico para los adultos de Zabrotes subfasciatus (Figura 1) (Tabla 1).

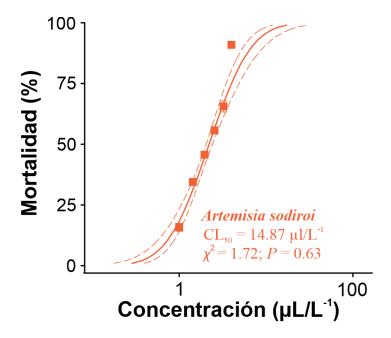


Figura 1. Toxicidad fumigante del aceite esencial de *Artemisia sodiroi* para *Zabrotes subfasciatus* gorgojo del fréjol almacenado. Las líneas representan los valores de concentración letal (CL) estimados obtenidos en los resultados de concentración – mortalidad sometidos a un análisis probit.

Tabla 1. Concentraciones letales estimadas para adultos de *Zabrotes subfasciatus*.

Especie	N	N CL μ L/L ⁻¹ (IC)		χ^2	P
Zabrotes subfasciatus.	819	CL_{10}	8,46 (7,43 – 9,26)	1,72	0,63
		CL_{30}	11,81 (11,13 – 12,36)		
		CL_{50}	14,87 (14,29 – 15,56)		
		CL70	18,73 (17,62 – 20,40)		
		CL_{90}	26,90 (23,41 – 30,70)		
	Zabrotes	Zabrotes 819	$\begin{array}{c cccc} & & & & CL_{10} \\ & & & & CL_{30} \\ \hline \textit{Zabrotes} & & 819 & CL_{50} \\ \textit{subfasciatus}. & & & CL_{70} \\ \end{array}$	CL ₁₀ 8,46 (7,43 – 9,26) CL ₃₀ 11,81 (11,13 – 12,36) Zabrotes subfasciatus. 819 CL ₅₀ 14,87 (14,29 – 15,56) CL ₇₀ 18,73 (17,62 – 20,40)	$\begin{array}{cccc} CL_{10} & 8,46 \ (7,43-9,26) \\ & CL_{30} & 11,81 \ (11,13-12,36) \\ \hline \textit{Zabrotes} & 819 & CL_{50} & 14,87 \ (14,29-15,56) & 1,72 \\ \hline \textit{Subfasciatus}. & CL_{70} & 18,73 \ (17,62-20,40) \\ \end{array}$

CL = concentración letal; IC = Intervalo de confianza

7.2 Repelencia del aceite esencial de Artemisia sodiroi a Zabrotes subfasciatus

La evaluación de repelencia del aceite esencial de *Artemisia sodiroi* muestra que fue eficaz en la repelencia para adultos de *Zabrotes subfasciatus* cuando fue expuesto por 24 h. Como podemos observar en la (Figura 2) el aceite esencial de *Artemisia sodiroi* logró repeler al gorgojo adulto en todas las concentraciones (CL) ya que existe una diferencia significativa.

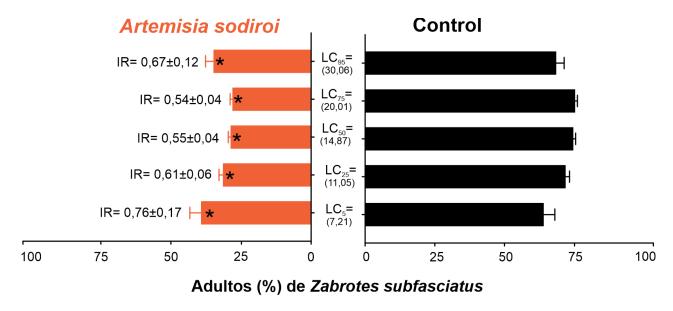


Figura 2. Porcentaje de adultos de *Zabrotes subfasciatus* que se desplazaron en fréjol almacenado tratado con aceite esencial de *Artemisia sodiroi* y fréjol no tratado. Cada barra evidencia las cinco repeticiones CL₅, CL₂₅, CL₅₀, CL₇₅ y CL₉₅ realizadas con el aceite esencial.

Siendo la CL_{50} [IR = 0,54] y CL_{75} [IR = 0,54] las más promisorias al momento de repeler al insecto adulto de *Zabrotes subfasciatus*.

7.3 Tasa instantánea de crecimiento de Zabrotes subfasciatus

La evaluación de la tasa de crecimiento (figura 3A) en la especie *Zabrotes subfasciatus* demuestra que en la reproducción existe una incidencia significativa entre el control y la aplicación de una concentración letal, la CL₉₅ (30 µL/L⁻¹), indica que la tasa de reproducción es menor en comparación al control. Por lo tanto, esta concentración de aceite esencial de *Artemisia sodiroi* incide negativamente en la reproducción la especie *Zabrotes subfasciatus*. En la figura 3B muestra el bioensayo de pérdida de masa de fréjol (*Phaseolus vulgaris* L.) donde existe mayor pérdida de grano en las concentraciones distintas a la CL₉₅, las mismas que mostraron diferencia estadística con respecto al control.

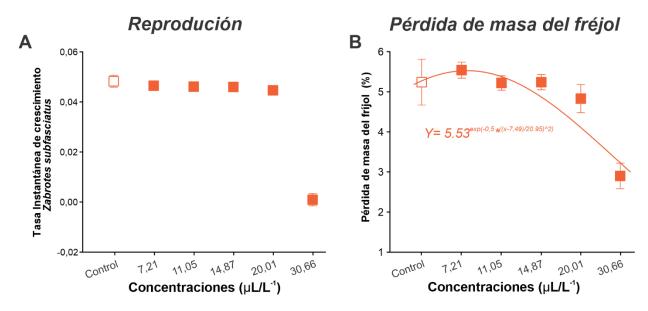


Figura 3. A. Tasa instantánea de crecimiento de la especie *Zabrotes subfasciatus*. B. pérdida de masa del fréjol en todas las concentraciones letales del aceite esencial de *Artemisia sodiroi*. las dosis se expresan en $\mu l/l^{-1}$. las barras verticales representan el error estándar de la media (se).

7.4 Análisis químico del aceite esencial de Artemisia sodiroi

El análisis químico realizado por cromatografía de gases dio como resultado que el aceite esencial de *Artemisia sodiroi*, tiene diferentes compuestos químicos que han sido identificados, mayoritariamente por Chrysanthenol <cis> (48,75 %), Cineole <1, 8> (15,54 %) y Pinene <<0> (7,15 %) (Tabla 2).

Tabla 2. Composición química del aceite esencial de *Artemisia sodiroi*.

Aceite esencial	TR	Compuesto	ICR	IRL	%	SD
	20,08	Chrysanthenol <cis-></cis->	1171	1160	48,75	2,44
Artemisia	13,33	Cineole <1, 8->	1029	1026	15,54	0,78
sodiroi	8,76	Pinene $\leq \alpha - >$	926	932	7,15	0,36
50000	33,83	Germacrene D	1479	1480	4,20	0,21
	19,12	Verbenol <trans-></trans->	1151	1140	2,97	0,15

NC: número de compuesto, TR: tiempo de retención, IRC: índice de retención calculado, IRL índice de retención de bibliografía, FQ: fórmula química, PM: Peso molecular

8. Discusión

Entre los diferentes productos naturales, los aceites esenciales han sido los más estudiados para sustituir o mejorar los insecticidas sintéticos. Los aceites esenciales y extractos de plantas con potencial insecticida han sido objetivo de estudio para poder ser usados como bioinsecticidas para el manejo y control de plagas y enfermedades ya que poseen diferentes beneficios y han demostrado ser opción para reemplazar a los insecticidas de origen sintético, debido a que son seguros, ecológicos y en ocasiones selectivo (Zygadlo et al., 2021). En la presente investigación se demostró que el aceite esencial de *Artemisia sodiroi* con sus componentes principales poseen toxicidad para el gorgojo del fréjol almacenado *Zabrotes subfasciatus*.

Dentro de la toxicidad se ha reportado que las plantas que pertenecen a la familia Asteraceae posen metabolitos secundarios importantes para controlar varias plagas en granos almacenados como lo demuestra (Kordali et al., 2012) donde se controló al gorgojo Sitophilus granarius. De igual forma se ha demostrado toxicidad contra Culex quinquefasciatus (Alves et al., 2018). También se han reportado estudios con resultados similares a los encontrados en mi investigación como es el caso del aceite esencial de Artemisia vulgaris L. fue tóxico contra Tribolium castaneum, Callosobruchus maculatus (F.) y Rhizopertha dominica (F.) (Sharifian et al., 2013). Concuerda con Gao et al. (2023) donde este aceite esencial de Artemisia vulgaris controlo de igual manera a la especie de Tribolium castaneum en estado larval y adulto. En la investigación realizada por Rismayani et al. (2022) indica que este aceite esencial fue tóxico para la especie Sitophilus zeamais lo cual evidencia la efectividad del aceite esencial utilizado contra plagas de almacenamiento. Wang et al. (2006) demuestran que aceite esencial de Artemisia vulgaris contra Tribolium castaneum fue 100 % tóxico. El aceite esencial de Artemisia resulto ser potencialmente tóxico por contacto y fumigación contra adultos o larvas de T. castaneum (Hu et al., 2019).

En el análisis químico del aceite esencial de *Artemisia sodiroi* se demostró que los componentes mayoritarios son cis-Chrysanthenol (48,75 %), 1, 8-Cineole (15,54 %) y α-Pinene (7,15 %), contrariamente <u>Ruiz et al. (2010)</u> encontraron que este aceite esencial estaba compuesto por estos mismos componentes pero en diferentes concentraciones, estas variaciones pueden ser causadas por varios factores bióticos, abióticos, método de extracción y parte de la planta que se extrae (<u>Attia et al., 2018</u>; <u>Valarezo et al., 2021</u>). Sin embargo en estudios similares realizados por (<u>Abiri et al., 2018</u>; <u>Judzentiene & Budiene, 2018</u>; <u>Munda et al., 2019</u>; <u>Ranjbar et al., 2020</u>) revelaron que el aceite esencial de *Artemisia vulgaris* que

pertenece a la misma familia Asteraceae que fue analizado mediante GC/MS se compone principalmente por Cineole <1,8-> y Pinene $<\alpha->$.

El aceite esencial de *Artemisia sodiroi* demostró una alta capacidad de mortalidad contra adultos de *Zabrotes subfasciatus*, la toxicidad puede ser debido a sus componentes encontrados, al igual que en estudios similares realizados en otros aceites esenciales se reportó la presencia de estos compuestos. de Albuquerque Lima et al. (2021) indica que el aceite esencial de *Lippia alba* está compuesto principalmente por Cineole <1,8-> entre otros compuestos que lograron controlar *S. zeamais*. El aceite esencial de *Lippia gracilis* Schauer contiene Cineole <1,8-> y Pinene < α -> lo cual reporto potencial insecticida contra el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (Monteiro et al., 2021). El aceite esencial de *Bacopa coroliniana* demostró que se compone de Pinene < α -> y controlo de manera exitosa sobre el gorgojo del arroz (Liu et al., 2020). *Eucalyptus occidentalis* compuesto por Cineole <1,8-> fue efectivo en el control de *Tribolium castaneum* y *Rhyzopertha dominica* (Bande-Borujeni et al., 2018).

El aceite esencial de *Artemisia sodiroi* resultó ser repelente en todas sus concentraciones contra adultos de *Zabrotes subfasciatus*, evidenciando que la CL₅₀ [IR = 0,54] y CL₇₅ [IR =0,54] fueron las más repelentes contra los adultos de *Zabrotes subfasciatus*. Al comparar con otros estudios reportan que el aceite esencial de *Artemisia vulgaris* presenta actividad repelente contra *A. aegypti, Tribolium castaneum* (Balasubramani et al., 2018; Naimi et al., 2022). Estos efectos pueden ser causados por su alto contenido de compuestos monoterpénicos (Naimi et al., 2022).

La evaluación de la tasa de crecimiento y reproducción demostraron que la reproducción de Zabrotes subfasciatus tuvo mayor número de emergencia en todas las concentraciones excepto la CL₉₅ la cual tuvo la menor reproducción, esto es causado por la aplicación del aceite esencial en mayor concentración. Esto demuestra que el aceite esencial de Artemisia sodiroi fue efectivo en la mayor dosis evitando mayor reproducción del insecto. Contrariamente con los resultados de Iturralde-Garcia et al. (2022) que indican que si existió diferencia significativa entre todas las concentraciones del aceite esencial de M. viridiflora obteniendo mayor emergencia de Rhyzopertha dominca en el control y menor emergencia en las concentraciones del aceite esencial. En la investigación realizada por Costa-Becheleni et al. (2020) demuestran que todos los tratamientos se consideran como prometedores ya que redujeron menos del 50 % de la reproducción de S. zeamais bajo concentraciones de aceite esencial de M. quinquenervia.

El bioensayo de perdida de masas de fréjol con las concentraciones de aceite esencial demostró que existió mayor pérdida de grano en todas las concentraciones, lo cual se valida por medio de los resultados obtenidos en la reproducción, donde a una mayor reproducción de los insectos existe una mayor pérdida de grano, ya que, los insectos se alimentan más del grano. En estudios realizados por <u>Iturralde-Garcia et al. (2022)</u> indican que la pérdida de grano de trigo fue variando a medida que se trataban con diferentes dosis del aceite esencial de *M. viridiflora* sobre *Rhyzopertha dominca*. En estudios realizados con polvo vegetal de *Ruta graveolens* demostraron que el daño causado por *Zabrotes subfasciatus* sobre grano de fréjol fue del 95 %, lo cual indica que en las concentraciones aplicadas el insecto se alimentó más del grano (<u>de los Ángeles Bautista-Sosa et al., 2021</u>).

9. Conclusiones

- De acuerdo con la investigación realizada se puede concluir que el aceite esencial de
 Artemisia sodiroi evidencio que es altamente tóxico contra adultos de *Zabrotes subfasciatus*, lo cual indica que es un aceite potencial para realizar controles de plagas
 de granos almacenados.
- El aceite esencial logró la repelencia de los adultos de *Zabrotes subfasciatus* en todas las concentraciones letales, lo cual demuestra su capacidad insecticida.
- Los adultos de *Zabrotes subfasciatus* al dejar colonizar durante 42 días el fréjol respecto a la tasa de crecimiento se obtuvo mayor emergencia en todas las concentraciones excepto la CL₉₅. Las pérdidas de masa de fréjol fueron mayores en todas las concentraciones, ya que lo insectos al tener más reproducción se alimentaron más del fréjol.

10. Recomendaciones

- Realizar estudios sobre efectos biológicos en *Zabrotes subfasciatus* expuestos a dosis subletales de estas biomoléculas.
- Realizar bioensayos con las dosis establecidas en diferentes organismos de la misma familia de *Zabrotes subfasciatus*.
- Realizar los mismos bioensayos disminuyendo en tiempo de exposición del insecto en las dosis letales.

11. Bibliografía

- Abiodun, D., Makanjuola, W., Oluwakemi, T., Oyindamola, A., Adeleke, K., & Adeolu, E. (2010). Toxicity of Chenopodium Ambrosioides L. (Chenopodiaceae) Products From Nigeria Against Three Storage Insects. *Journal of Plant Protection Research*, vol. 50(No 3). https://doi.org/10.2478/v10045-010-0064-7
- Abiri, R., Silva, A. L. M., de Mesquita, L. S. S., de Mesquita, J. W. C., Atabaki, N., de Almeida, E. B., . . . Malik, S. (2018). Towards a better understanding of Artemisia vulgaris: Botany, phytochemistry, pharmacological and biotechnological potential. *Food Research International*, 109, 403-415. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.072
- Adams, R. P. (2017). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. *Gruver, TX USA: Texensis Publishing*.
- Alves, K. F., Caetano, F. H., Pereira Garcia, I. J., Santos, H. L., Silva, D. B., Siqueira, J. M., . . . Alves, S. N. (2018). Baccharis dracunculifolia (Asteraceae) essential oil toxicity to Culex quinquefasciatus (Culicidae). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(31), 31718-31726. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3149-x
- Andrade-Ochoa, S., Sánchez-Torres, L. E., Nevárez-Moorillón, G. V., Camacho, A. D., & Nogueda-Torres, B. (2017). Aceites esenciales y sus componentes como una alternativa en el control de mosquitos vectores de enfermedades. *Biomédica*, *37*, 224-243.
- Anwar, F., Ahmad, N., Alkharfy, K. M., & Gilani, A.-u.-H. (2016). Chapter 65 Mugwort (Artemisia vulgaris) Oils. In V. R. Preedy (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation*, *Flavor and Safety* (pp. 573-579). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00065-1
- Araújo, N. S. (2021). Avaliação do desempenho do caruncho Zabrotes subfasciatus em diferentes hospedeiros alternativos.
- Armenta-López, A. R., Lugo-García, G. A., Sánchez-Soto, B. H., Romero-Félix, C. S., Cortez-Mondaca, E., & Nava-Pérez, E. (2021). Resistencia del frijol al ataque del gorgojo pardo Acanthoscelides obtectus (Say, 1831)(Coleoptera: Chrysomelidae) en la zona Norte de Sinaloa. *Acta zoológica mexicana*, 37.
- Attia, E. Z., Abd El-Baky, R. M., Desoukey, S. Y., El Hakeem Mohamed, M. A., Bishr, M. M., & Kamel, M. S. (2018). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of Ruta graveolens plants treated with salicylic acid under drought stress conditions.

- Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 4(2), 254-264. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.09.001
- Balasubramani, S., Sabapathi, G., Moola, A. K., Solomon, R. V., Venuvanalingam, P., & Bollipo Diana, R. K. (2018). Evaluation of the Leaf Essential Oil from Artemisia vulgaris and Its Larvicidal and Repellent Activity against Dengue Fever Vector Aedes aegypti—An Experimental and Molecular Docking Investigation. *ACS Omega*, *3*(11), 15657-15665. https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01597
- Bande-Borujeni, S., Ramezani, L., & Zandi-Sohani, N. (2018). Chemical composition and bioactivity of essential oil from Eucalyptus occidentalis leaves against two stored product pests. *International Journal of Tropical Insect Science*, 38(3), 216-223. https://doi.org/10.1017/S1742758418000085
- Bernardes, W. A., Silva, E. O., Crotti, A. E. M., & Baldin, E. L. L. (2018). Bioactivity of selected plant-derived essential oils against Zabrotes subfasciatus (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 77, 16-19. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.02.007
- Bertrand, C. A. (2000). SigmaPlot 2000 [Brief article
- Product/service evaluation]. *Science*, 289, 1894. https://link.gale.com/apps/doc/A65730711/AONE?u=anon~adb3929a&sid=googleSch olar&xid=07e6682e
- Calero-Hurtado, A., Quintero-Rodríguez, E., Olivera-Viciedo, D., Pérez-Díaz, Y., Castro-Lizazo, I., Jiménez, J., & López-Dávila, E. (2018). Respuesta de dos cultivares de frijol común a la aplicación foliar de microorganismos eficientes. *Cultivos Tropicales*, *39*, 5-10. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S0258-59362018000300001&nrm=iso
- Chen, Z., Bertin, R., & Froldi, G. (2013). EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, *138*(1), 414-420. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.001
- Costa-Becheleni, F. R., Toro-Sánchez, C. L. D., Wong-Corral, F. J., Robles-Burgueño, M. D. R., Cárdenas-López, J. L., & Borboa-Flores, J. (2020). Aceites esenciales para el control de Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) y efecto sobre la calidad del grano de maíz Zea mays Linnaeus (Poales: Poaceae). *Revista chilena de entomología*, 46(4), 639-652.

- da Costa, J., Forim, M., Costa, E., De Souza, J., Mondego, J., & Boiça Junior, A. (2014). Effects of different formulations of neem oil-based products on control Zabrotes subfasciatus (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. *Journal of Stored Products Research*, *56*, 49-53. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.10.004
- de Albuquerque Lima, T., de Queiroz Baptista, N. M., de Oliveira, A. P. S., da Silva, P. A., de Gusmão, N. B., dos Santos Correia, M. T., . . . Paiva, P. M. G. (2021). Insecticidal activity of a chemotype VI essential oil from Lippia alba leaves collected at Caatinga and the major compound (1,8-cineole) against Nasutitermes corniger and Sitophilus zeamais. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 177, 104901. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104901
- de los Ángeles Bautista-Sosa, N., de Jesús Góngora-Gamboa, C., Chan-Canché, R. J., Ballina-Gómez, H. S., González-Mendoza, D., & Ruiz-Sánchez, E. (2021). EFECTO DE POLVOS VEGETALES EN EL GORGOJO MEXICANO (Zabrotes subfasciatus Boheman) Y SU DAÑO A GRANOS ALMACENADOS DE FRIJOL LIMA (Phaseolus lunatus L.)†[EFFECT OF DRIED PLANT POWDER IN THE MEXICAN BEAN WEEVIL (Zabrotes subfasciatus Boheman) AND ITS DAMAGE TO STORED LIMA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24, 58.
- Ekiert, H., Pajor, J., Klin, P., Rzepiela, A., Ślesak, H., & Szopa, A. (2020). Significance of Artemisia Vulgaris L. (Common Mugwort) in the History of Medicine and Its Possible Contemporary Applications Substantiated by Phytochemical and Pharmacological Studies. *Molecules*, 25(19).
- Fiallos, F. R. G., Calderón, Á. J. A., Estrella, R. G., Ocampo, E. D., Mora, F. D. S., & Benavides, Ó. P. (2013). Enfermedades y componentes de rendimiento en dieciséis genotipos de fréjol en Quevedo, Ecuador. *Revista Ciencia y Tecnología*, 6(2), 31-39.
- Fuentes, C., Fuentes, A., Barat, J. M., & Ruiz, M. J. (2021). Relevant essential oil components: a minireview on increasing applications and potential toxicity. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(8), 559-565. https://doi.org/10.1080/15376516.2021.1940408
- Gao, S., Guo, M., Yin, Y., Zhang, X., Zhang, Y., & Zhang, K. (2023). Bioactivity of Artemisia vulgaris Essential Oil and Two of Its Constituents Against the Red Flour Beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomological Science*, 58(3), 355-369. https://doi.org/10.18474/JES22-49
- Gonzales Correa, Y. D. C., Faroni, L. R. A., Haddi, K., Oliveira, E. E., & Pereira, E. J. G. (2015). Locomotory and physiological responses induced by clove and cinnamon

- essential oils in the maize weevil Sitophilus zeamais. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 125, 31-37. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.06.005
- González-Guiñez, R., Silva-Aguayo, G., Urbina-Parra, A., & Gerding-González, M. (2016).

 ACEITE ESENCIAL DE Eucalyptus globulus Labill Y Eucalyptus nitens H. Deane & Maiden (MYRTACEAE) PARA EL CONTROL DE Sitophilus zeamais Motschulsky.

 Chilean journal of agricultural & animal sciences, 32, 204-216.

 http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902016000300005&nrm=iso
- Herrera, R. V., Velázquez, E. P., Alonso, A. M., & Morales, M. C. (2013). Efecto de 7 especies botánicas sobre Zabrotes subfasciatus (Bohemann). *Centro Agrícola*, 40(2), 85-90.
- Hu, J., Wang, W., Dai, J., & Zhu, L. (2019). Chemical composition and biological activity against Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae) of Artemisia brachyloba essential oil. *Industrial Crops and Products*, 128, 29-37. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.076
- Isman, M. B. (2020). Bioinsecticides based on plant essential oils: a short overview. 75(7-8), 179-182. https://doi.org/doi:10.1515/znc-2020-0038 (Zeitschrift für Naturforschung C)
- Iturralde-Garcia, R. D., Borboa-Flores, J., Sánchez-Maríñez, R., Cortez-Rocha, M. O., Cinco-Moroyoqui, F., & Wong-Corral, F. (2022). Actividad de tres aceites esenciales sobre la mortalidad de Rhyzopertha dominca (F.) en trigo almacenado. *Biotecnia*, 24(1), 164-170.
- Judzentiene, A., & Budiene, J. (2018). Chemical Polymorphism of Essential Oils of Artemisia vulgaris Growing Wild in Lithuania. *Chemistry & Biodiversity*, 15(2), e1700257. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cbdv.201700257
- Jumbo, L. O. V., Corrêa, M. J. M., Gomes, J. M., Armijos, M. J. G., Valarezo, E., Mantilla-Afanador, J. G., . . . Oliveira, E. E. (2022). Potential of Bursera graveolens essential oil for controlling bean weevil infestations: Toxicity, repellence, and action targets.

 Industrial Crops and Products, 178, 114611.

 https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114611
- Kordali, Ş., Yıldırım, E., Emsen, B., Kabaağaç, G., & Ercişli, S. (2012). Fumigant toxicity of essential oils of nine plant species from Asteraceae and Clusiaceae against Sitophilus granarius (L.)(Coleoptera: Curculionidae).
- León Méndez, G., Osorio Fortich, M. d. R., & Martínez Useche, S. R. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de C itrus sinensis L. *Revista Cubana de*

- *Farmacia*, 49, 0-0. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152015000400014&nrm=iso
- Liu, T.-T., Chao, L. K., Hong, K.-S., Huang, Y.-J., & Yang, T.-S. (2020). Composition and Insecticidal Activity of Essential Oil of Bacopa caroliniana and Interactive Effects of Individual Compounds on the Activity. *Insects*, 11(1).
- Malik, S., de Mesquita, L. S., Silva, C. R., de Mesquita, J. W., de Sá Rocha, E., Bose, J., . . . Costa-Júnior, L. M. (2019). Chemical Profile and Biological Activities of Essential Oil from Artemisia vulgaris L. Cultivated in Brazil. *Pharmaceuticals*, *12*(2).
- Mazzonetto, F., & Vendramim, J. D. (2003). Efeito de pós de origem vegetal sobre Acanthoscelides obtectus (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. Neotropical Entomology, 32.
- Monteiro, I. N., Ferreira, L. O. G., de Oliveira, A. K. M., Favero, S., Figueiredo, P. L. B., Maia, J. G. S., . . . Matias, R. (2021). Toxicity of the Lippia gracilis essential oil chemotype, pinene-cineole-limonene, on Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae).

 International Journal of Tropical Insect Science, 41(1), 181-187.
 https://doi.org/10.1007/s42690-020-00191-y
- Munda, S., Pandey, S. K., Dutta, S., Baruah, J., & Lal, M. (2019). Antioxidant Activity, Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of Artemisia vulgaris L. Leaves from Northeast India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(2), 368-379. https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1602083
- Myers, J. R., & Kmiecik, K. (2017). Common Bean: Economic Importance and Relevance to Biological Science Research. In M. Pérez de la Vega, M. Santalla, & F. Marsolais (Eds.), *The Common Bean Genome* (pp. 1-20). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63526-2_1
- Naimi, I., Zefzoufi, M., Bouamama, H., & M'hamed, T. B. (2022). Chemical composition and repellent effects of powders and essential oils of Artemisia absinthium, Melia azedarach, Trigonella foenum-graecum, and Peganum harmala on Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Industrial Crops and Products*, *182*, 114817. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114817
- Nguemtchouin, M. G. M., Ngassoum, M. B., Chalier, P., Kamga, R., Ngamo, L. S. T., & Cretin, M. (2013). Ocimum gratissimum essential oil and modified montmorillonite clay, a means of controlling insect pests in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 52, 57-62. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jspr.2012.09.006

- Ortega-Nieblas, M. M., Robles-Burgueño, M. R., Vázquez-Moreno, L., Cortez-Mondaca, E., González-León, A., Morales-Trejo, A., & González-Rios, H. (2014). Efecto Tóxico y Persistente del Aceite Esencial del Orégano contra Zabrotes subfasciatus (Coleoptera: Bruchidae) en Frijol Almacenado. *Southwestern Entomologist*, 39(1).
- Oscco Huillca, O. (2019). Actividad insecticida y repelente del aceite esencial de los frutosde molle (Schinus molle L.) en gorgojos (Acanthoscelides obtectus) de frijol (Phaseolus vulgaris L.) en condición de almacenamiento.
- Pereira, H. S., Mota, A. P. S., Rodrigues, L. A., de Souza, T. L. P. O., & Melo, L. C. (2019). Genetic diversity among common bean cultivars based on agronomic traits and molecular markers and application to recommendation of parent lines. *Euphytica*, 215(2), 38. https://doi.org/10.1007/s10681-018-2324-y
- Pizarro, I. (2015). Evaluación de la resistencia de genotipo de frijol (Phaseolus vulgaris L.) al ataque del gorgojo del frijol Zabrotes subfasciatus Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2015.].
- Ranjbar, M., Naghavi, M. R., & Alizadeh, H. (2020). Chemical composition of the essential oils of Artemisia species from Iran: a comparative study using multivariate statistical analysis. *Journal of Essential Oil Research*, 32(4), 361-371. https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1750495
- Rismayani, Rohimatun, Mardiningsih, T. L., & Rizal, M. (2022). The potential of essential oils Eucalyptus citriodora and Artemisia vulgaris against Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 974(1), 012009. https://doi.org/10.1088/1755-1315/974/1/012009
- Rodríguez-González, Á., Álvarez-García, S., González-López, Ó., Da Silva, F., & Casquero, P. A. (2019). Insecticidal Properties of Ocimum basilicum and Cymbopogon winterianus against Acanthoscelides obtectus, Insect Pest of the Common Bean (Phaseolus vulgaris, L.). *Insects*, *10*(5).
- Ruiz, S., Malagón, O., Zaragoza, T., & Valarezo, E. (2010). Composition of the Essential Oils of Artemisia sodiroi Hieron., Siparuna eggersii Hieron., Tagetes filifolia Lag. and Clinopodium nubigenum (Kunth) Kuntze from Loja Ecuador. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *13*(6), 676-691. https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643879
- SAS, S., & Guide, S. U. s. (2002). 2003–Release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sharifian, I., Hashemi, S. M., & Darvishzadeh, A. (2013). Fumigant toxicity of essential oil of Mugwort (Artemisia vulgaris L.) against three major stored product beetles. *Archives of*

- *Phytopathology and Plant Protection*, *46*(4), 445-450. https://doi.org/10.1080/03235408.2012.743389
- Silva, M. C. F. e., da Silva Fontes, L., Barbosa, D. R. e. S., de Oliveira da Silva, N. M., Silva, G. N., & Carvalho, M. S. (2023). Insecticidal activity of fixed oils on Zabrotes subfasciatus (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae) in common bean stored. International Journal of Tropical Insect Science, 43(3), 961-969. https://doi.org/10.1007/s42690-023-01007-5
- Suazo, J. O. (2019). Evaluación de la resistencia de genotipos de frijol al virus del mosaico dorado amarillo y al gorgojo mexicano Zabrotes subfasciatus Boheman (Coleóptera: Chrysomelidae) Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2019].
- T. Chirinos, D., Castro, R., Cun, J., Castro, J., Peñarrieta Bravo, S., Solis, L., & Geraud-Pouey,
 F. (2020). Los insecticidas y el control de plagas agrícolas: la magnitud de su uso en cultivos de algunas provincias de Ecuador. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21, 84-99. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci arttext&pid=S0122-87062020000100084&nrm=iso
- Tigist, S. G., Melis, R., Sibiya, J., & Keneni, G. (2017). Evaluation of different Ethiopian common bean, Phaseolus vulgaris (Fabaceae) genotypes for host resistance to the Mexican bean weevil, Zabrotes subfasciatus (Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 38(1), 1-15. https://doi.org/10.1017/S1742758417000248
- Titouhi, F., Amri, M., Messaoud, C., Haouel, S., Youssfi, S., Cherif, A., & Mediouni Ben Jemâa, J. (2017). Protective effects of three Artemisia essential oils against Callosobruchus maculatus and Bruchus rufimanus (Coleoptera: Chrysomelidae) and the extended side-effects on their natural enemies. *Journal of Stored Products Research*, 72, 11-20. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.02.007
- Trematerra, P., Fontana, F., & Mancini, M. (1996). Analysis of development rates of Sitophilus oryzae (L.) in five cereals of the genus Triticum. *Journal of Stored Products Research*, 32(4), 315-322. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-474X(96)00035-5
- Valarezo, E., Vullien, A., & Conde-Rojas, D. (2021). Variability of the Chemical Composition of the Essential Oil from the Amazonian Ishpingo Species (Ocotea quixos). *Molecules*, 26(13), 3961. https://www.mdpi.com/1420-3049/26/13/3961
- van Den Dool, H., & Dec. Kratz, P. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography.

- Journal of Chromatography A, 11, 463-471. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X
- Vilca Mallqui, K. S., Oliveira, E. E., & Guedes, R. N. C. (2013). Competition between the bean weevils Acanthoscelides obtectus and Zabrotes subfasciatus in common beans. *Journal of Stored Products Research*, 55, 32-35. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.07.004
- Viteri Jumbo, L. O., Faroni, L. R. A., Oliveira, E. E., Pimentel, M. A., & Silva, G. N. (2014). Potential use of clove and cinnamon essential oils to control the bean weevil, Acanthoscelides obtectus Say, in small storage units. *Industrial Crops and Products*, 56, 27-34. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.038
- Wang, J., Zhu, F., Zhou, X. M., Niu, C. Y., & Lei, C. L. (2006). Repellent and fumigant activity of essential oil from Artemisia vulgaris to Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 42(3), 339-347. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jspr.2005.06.001
- Zygadlo, J. A., Achimón, F., Brito, V. D., Krapacher, C. R., Arena, J. S., Leal, L., . . . Herrera, J. M. (2021). Los aceites esenciales como base para el desarrollo de bioinsecticidas. In: Universidad Nacional de Córdoba.

12. Anexos

Anexo 1. Extracción de aceites esenciales.





Anexo 2. Ensayo de toxicidad para Zabrotes subfasciatus.





Anexo 3. Ensayo de repelencia para Zabrotes subfasciatus.



Anexo 4. Ensayo de Proliferación para Zabrotes subfasciatus.



Anexo 5. Certificado de traducción del abstract.

Loja, 21 de marzo de 2024

Lic. Viviana Valdivieso Loyola Mg. Sc.

DOCENTE DE INGLÉS

A petición verbal de la parte interesada:

CERTIFICA:

Que, desde mi legal saber y entender, como profesional en el área del idioma inglés, he procedido a realizar la traducción del resumen, correspondiente al Trabajo de Integración Curricular, titulado: Evaluación de aceites esenciales para el control de gorgojo (Zabrotes subfasciatus) en fréjol (Phaseolus vulgaris L.) almacenado, de la autoría de: Geovanna Camilla Cardenas Tenesaca, portadora de la cédula de identidad número 1150181988

Para efectos de traducción se ha considerado un nivel de inglés técnico, como amerita el caso.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, facultando a la portadora del presente documento, hacer uso del mismo, en lo que a bien tenga.

Atentamente.-



Lic. Viviana Valdivieso Loyola Mg. Sc. 1103682991

N° Registro Senescyt 4to nivel 1031-2021-2296049 N° Registro Senescyt 3er nivel 1008-16-1454771