

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Hesperozygis marifolia*
(LAMIACEAE) CONTRA *Tenebrio molitor*
(COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestra en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

IBT. Leonela Sofia Aponte Pineda

Dirigido por:

Dr. Miguel Angel Ramos López

Querétaro, Qro. a 6/ago/2024

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

**LGAC 3. Desarrollo de tecnologías botánicas, microbiales e integrales para el manejo racional de la sanidad en los cultivos
Identificación de productos naturales con actividad insecticida e insecticida.**

"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Hesperozygis marifolia* (LAMIACEAE) CONTRA *Tenebrio molitor* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)"

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestra en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

IBT. Leonela Sofía Aponte Pineda

Dirigido por:

Dr. Miguel Angel Ramos López

Dr. Miguel Angel Ramos López

Presidente

Firma

Dr. Marco Martín González Chávez

Secretario

Firma

Dr. Juan Campos Guillén

Vocal

Firma

Dr. José Alberto Rodríguez Morales

Suplente

Firma

Dr. Luis Arturo Godínez Mora-Tovar

Suplente

Firma

Dr. José Santos Cruz

Director de la Facultad

Dr. Manuel Toledano Ayala

Director de la Investigación y Posgrado

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Agosto 2024

México

Agradecimientos

A mis padres y hermanos por todo su apoyo.

A Valeria Soto por estar todo el tiempo a mi lado en las buenas y en las malas.

Al Dr. Miguel Angel Ramos por permitirme crecer junto a su equipo de trabajo y por todo el conocimiento aportado.

Al Dr. Marco Martín González por el apoyo y conocimiento aportado durante nuestra estadía en el Laboratorio de Síntesis Orgánica.

A los sinodales por su participación y aportaciones.

A mis compañeros del LCNI, compañeros de la MCTA y a todo el equipo de handball de la FQ por todo el apoyo y amistad brindada durante la maestría.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por la beca otorgada para el desarrollo de esta investigación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE CUADROS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
RESUMEN	
ABSTRACT	
1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
2.1 Granos básicos producidos en México	2
2.2 Plagas en granos almacenados	2
2.3 <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)	3
2.3.1 Generalidades	3
2.3.2 Ciclo biológico.....	4
2.4 <i>Tenebrio molitor</i> como plaga de granos almacenados	5
2.5 Métodos de control de <i>Tenebrio molitor</i>	6
2.5.1. Control físico.....	6
2.5.2 Control biológico	7
2.5.3 Control químico.....	8
2.5.4 Control botánico.....	8
2.6. Actividad insecticida de los aceites esenciales	10
2.6.1 Familia Lamiaceae	12
2.7 <i>Hesperozygis marifolia</i> (Lamiaceae)	13
2.7.1 Generalidades	13
3. Hipótesis	15
4. Objetivos	16
4.1 Objetivo general	16
4.2 Objetivos específicos	16
5. Metodología	17
5.1 Sitio de estudio.....	17
5.2 Crianza de <i>Tenebrio molitor</i>	17
5.3 Recolección del material vegetal.....	17

5.4 Obtención del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i>	18
5.5 Bioensayos para la evaluación de la actividad insecticida del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i> contra larvas y adultos de <i>Tenebrio molitor</i>	18
5.6 Caracterización de la composición del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i>	19
5.7 Evaluación de la actividad insecticida de los componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i>	19
5.8 Análisis estadístico	20
6. Resultados y discusión.....	21
6.1 Rendimiento del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i>	21
6.2 Actividad insecticida del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i> contra <i>Tenebrio molitor</i>	22
6.3 Composición química del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i>	24
6.4 Evaluación de la actividad insecticida de los componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i> contra <i>Tenebrio molitor</i>	26
6.4.1 Bioensayos de la isomentona contra <i>Tenebrio molitor</i>	26
6.4.2 Bioensayos de la pulegona contra <i>Tenebrio molitor</i>	30
7. Conclusiones	33
8. Perspectivas	33
9. Referencias.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Insectos plaga de productos almacenados en México (Modificado de Rodríguez & Herrera, 2003).....	3
Cuadro 2. Clasificación taxonómica del <i>Tenebrio molitor</i>	4
Cuadro 3. Ventajas y desventajas de los métodos de control de <i>Tenebrio molitor</i> (Modificado de SAGARPA, 2016).....	9
Cuadro 4. Actividad biológica y terpenos mayoritarios de los aceites esenciales del género <i>Hesperozygis</i> (Castilho et al., 2017; Ribeiro et al., 2010; Silva et al., 2014).....	12
Cuadro 5. Clasificación Taxonómica del <i>Hesperozygis marifolia</i>	13
Cuadro 6. Formulación para 500 g de sustrato administrada (Resendiz-Melgosa, et al., 2023)	17
Cuadro 7. Actividad insecticida del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i> contra larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	22
Cuadro 8. Actividad insecticida del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i> contra adultos de <i>Tenebrio molitor</i>	23
Cuadro 9. Composición química del aceite esencial de <i>Hesperozygis marifolia</i>	25
Cuadro 10. Actividad insecticida de la isomentona contra larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	26
Cuadro 11. Actividad insecticida de la isomentona contra adultos de <i>Tenebrio molitor</i>	27
Cuadro 12. Actividad insecticida de la pulegona contra larvas de <i>Tenebrio molitor</i>	31
Cuadro 13. Actividad insecticida de la pulegona contra adultos de <i>Tenebrio molitor</i>	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Tenebrio molitor</i> (Tomado de López et al., 2018).	4
Figura 2. Estructuras químicas de algunos terpenos representativos (Fuente propia creado en BioRender).	11
Figura 3. <i>Hesperozygis marifolia</i> (Schauer) Epling. (Obtenido de Red de Herbarios Mexicanos, 2019).	14
Figura 4. Aceite esencial extraído de las partes aéreas de <i>Hesperozygis marifolia</i> mediante hidrodesdilución.	21
Figura 5. Estructuras químicas de la a) isomentona en contraste a la b) mentona (Fuente propia creado en ChemPub).	29
Figura 6. Cadáveres de <i>T. molitor</i> adultos canibalizados en presencia de 0.07 μL Iso μL acetona $^{-1}$	30

RESUMEN

Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae) es considerada una plaga de granos almacenados (maíz, trigo, arroz). El método más utilizado para su control es mediante insecticidas químicos sintéticos, sin embargo, estos representan un daño al ambiente y a la salud humana. Una opción amigable con el ambiente es el uso de aceites esenciales. En este trabajo se evaluó la actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* contra *Tenebrio molitor*. Primero se realizaron bioensayos mediante la fumigación de diferentes concentraciones de aceite, presentando actividad insecticida contra larvas ($CL_{50}=0.29 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$) y adultos ($CL_{50}=0.09 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$) de *T. molitor*. Posteriormente se realizó un análisis de cromatografía de gases acoplado a un detector de masas para determinar los componentes mayoritarios del aceite esencial que fueron la isomentona (55.27 %) y la pulegona (37.39 %). Para determinar si estos monoterpenos conferían actividad insecticida al aceite esencial se realizaron bioensayos con ambos monoterpenos. La pulegona presentó actividad insecticida en larvas ($CL_{50}=0.03 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1}$) y en adultos ($CL_{50}= 0.58 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1}$). En el caso de la isomentona, no se registró actividad insecticida contra larvas, pero sí en adultos ($CL_{50}= 0.0874 \mu\text{L Iso } \mu\text{L acetona}^{-1}$), así mismo, presentó actividad antialimentaria, lo que ocasionó canibalismo entre los insectos. Sin embargo, son necesarios más estudios para determinar su actividad insecticida y antialimentaria. En este trabajo se demostró el potencial uso del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* y la pulegona como insecticida botánico para el control de *Tenebrio molitor*.

Palabras clave: Escarabajo de la harina, Plaga de granos almacenados, Control botánico, Actividad biológica, Monoterpenos, Pulegona, Isomentona.

ABSTRACT

Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae) is considered a pest of stored grains (corn, wheat, rice). The most commonly used method for its control is synthetic chemical insecticides, which are harmful to the environment and human health. An environmentally friendly option is the use of essential oils. This work evaluated the insecticidal activity of the essential oil of *Hesperozygis marifolia* against *Tenebrio molitor*. First, bioassays were performed by fumigation of different concentrations of oil, which showed insecticidal activity against larvae ($LC_{50}=0.29 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetone}^{-1}$) and adults ($LC_{50}=0.09 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetone}^{-1}$) of *T. molitor*. Subsequently, a gas chromatography analysis coupled to a mass detector was performed to determine the essential oil's main components: isomenthone (55.27 %) and pulegone (37.39 %). Bioassays were performed with both monoterpenes to determine whether these monoterpenes conferred insecticidal activity to the essential oil. Pulegone showed insecticidal activity on larvae ($LC_{50}=0.03 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetone}^{-1}$) and adults ($LC_{50}=0.58 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetone}^{-1}$). In the case of isomenthone, no insecticidal activity was found against larvae, but it was found in adults ($LC_{50}=0.0874 \mu\text{L Iso } \mu\text{L acetone}^{-1}$), in addition, it showed antifeeding activity, which promoted cannibalism among insects. Further studies are necessary to determine isomenthone insecticidal and antifeeding activity. This work demonstrated the potential use of *Hesperozygis marifolia* essential oil and pulegone as a botanical insecticide for controlling *Tenebrio molitor*.

Keywords: Flour beetle, Stored grain pest, Botanical control, Monoterpenes, Biological activity, Pulegone, Isomenthone.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Leonela Sofía".

1. Introducción

El escarabajo amarillo de la harina, *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae) es considerada como una importante plaga de productos almacenados derivados del trigo, arroz y maíz. La presencia de ese insecto en granos almacenados puede contaminarlos mediante sus exoesqueletos, residuos metabólicos e indirectamente por microorganismos causando la pérdida de calidad de los alimentos.

Algunos métodos de control para *T. molitor* incluyen el físico, biológico y químico, siendo este último el método más utilizado mediante la fumigación de insecticidas químicos sintéticos. Sin embargo, la generación de residuos tóxicos para el ambiente y la salud humana, desarrollo de resistencia a los insecticidas, entre otras han limitado la aplicación de insecticidas químicos.

Los aceites esenciales están siendo considerados como posibles alternativas a los insecticidas químicos sintéticos; muchos de ellos han mostrado actividades biológicas (repelentes, ovicidas, fumigantes, insecticidas, etc.). La ventaja de los aceites esenciales es que tienen baja toxicidad para los seres humanos, fácil degradación y menor impacto ambiental, lo que los hace adecuados para el control de plagas. Se componen principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, etc., moléculas responsables de conferir la actividad biológica a los aceites esenciales y que además juegan un papel importante en la interacción planta- ambiente y planta-insecto.

Se ha demostrado que los aceites esenciales de algunas plantas pertenecientes a la familia Lamiaceae, como *Hesperozygis ringens* y *Hesperozygis myrtoides* tienen actividad acaricida e insecticida, respectivamente. En donde sus compuestos monoterpénicos pudiesen estar confiriendo actividad biológica al aceite esencial. La planta de interés en este estudio, *Hesperozygis marifolia*, es importante en la medicina tradicional mexicana y de la cual aún no existen reportes sobre su actividad insecticida. Por lo que en este trabajo se evaluará la actividad insecticida del aceite esencial *Hesperozygis marifolia* (Lamiaceae) y sus componentes mayoritarios contra *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae).

2. Antecedentes

2.1 Granos básicos producidos en México

En México son considerados granos básicos a los alimentos que son indispensables en la dieta diaria, tales como el maíz, el trigo y el arroz, que tienen producciones anuales de 24 millones, 970 mil, 4 millones y 236 millones de Tn respectivamente; tales productos contribuyen a la salud alimentaria. Los estados con mayor producción de granos son Sinaloa, Tamaulipas, Jalisco, estados del Bajío (Guanajuato, Querétaro y Michoacán), Chiapas y Sonora. Los granos y semillas demandan cuidados especiales por su valor económico, alimenticio, agrícola e industrial por esto es necesario recurrir a su almacenamiento y conservación (ASERCA, 2018; CEDRSSA, 2020; SADER, 2022; SAGARPA, 2016).

2.2 Plagas en granos almacenados

En el país, los métodos de mayor uso para el almacenamiento de granos son: almacenamiento en costales, almacenamiento a granel, almacenamiento hermético y almacenes para grandes volúmenes; en todos ellos es necesario un ambiente seco y limpio, lo que permitirá la conservación de granos, manteniéndolos sanos y sin impurezas. Sin embargo, durante la etapa del almacenamiento pueden presentarse factores que afectan la calidad de los granos, por ejemplo, la parición de hongos, roedores, aves y de mayor importancia, los insectos. Si no existe un control preventivo adecuado, los insectos encuentran un ambiente favorable para su crecimiento y desarrollo dentro de los granos almacenados, donde pueden expresar en gran medida su potencial reproductivo y de alimentación (ASERCA, 2018; Shadia et al., 2011).

Generalmente, los insectos plaga de granos almacenados pertenecen al orden de los coleópteros y lepidópteros, están fuertemente influenciados por la temperatura y por la humedad del grano. A la fecha se han registrado alrededor de 250 especies de insectos plaga que afectan a productos almacenados, de las cuales 20 son considerados de gran importancia, en el Cuadro 1 se enlistan

algunas de los insectos plaga registradas en México (SAGARPA, 2016; Shadia et al., 2011).

Cuadro 1. Insectos plaga de productos almacenados en México (Modificado de Rodríguez & Herrera, 2003).

Nombre común	Nombre científico	Orden y familia
Picudo del maíz	<i>Sitophilus zeamais</i> (Motsch).	Coleoptera: Curculionidae
Picudo del arroz	<i>Sitophilus oryzae</i> (L.)	Coleoptera: Curculionidae
Barrenador pequeño de los granos	<i>Rhyzopertha dominica</i> (Fabr.)	Coleoptera: Bostrichidae
Gorgojo castaño de la harina.	<i>Tribolium castaneum</i> (Hbst.)	Coleoptera: Tenebrionidae
Gorgojo del frijol	<i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say.)	Coleoptera: Chrysomelidae
Gorgojo rojizo de los granos	<i>Cryptolestes ferrugineus</i> (Steph.)	Coleoptera: Laemophloeidae
Palomilla dorada del maíz	<i>Sitotroga cereallela</i> (Olivier)	Lepidoptera: Gelechiidae
Escarabajo de la harina	<i>Tenebrio molitor</i> (L.)	Coleoptera: Tenebrionidae

2.3 *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)

2.3.1 Generalidades

El “Escarabajo Molinero” o también “Escarabajo de la Harina”, *T. molitor*, llamado así porque es considerada una plaga de productos a bases de cereales, es un escarabajo de color marrón de hábitos alimenticios nocturnos. Es una especie cosmopolita, principalmente habita en regiones con climas templados. En el Cuadro 2 se presenta su clasificación taxonómica (López et al., 2018; Medrano., 2019; Plata-Rueda et al., 2021).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del *Tenebrio molitor* (Modificado de Schoch et al., 2020).

Nombre científico	<i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus)
Dominio	Eukarya
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Coleoptera
Familia	Tenebrionidae
Genero	<i>Tenebrio</i>
Especie	<i>T. molitor</i>

2.3.2 Ciclo biológico

Tenebrio molitor, es un insecto holometábolo, es decir, que su ciclo de vida se compone de cuatro etapas: huevo, larva, pupa y adulto como se muestra en la Figura 1. El ciclo completo tiene una duración entre 300 a 350 d en condiciones ambientales. Sin embargo, en crianza de laboratorio (25-27 °C, 60-75 % de humedad relativa, densidad de población de 8.4 insectos dm⁻², fotoperiodos de 14:10 Luz obscuridad) el ciclo completo puede durar 70 a 85 d (Mariod, A., 2017; López et al., 2018).



Figura 1. Ciclo de vida de *Tenebrio molitor* (Tomado de López et al., 2018).

Las larvas al llegar a las cuatro semanas de vida miden alrededor de 1.5 cm. En transcurso de 6 a 7 semanas mudan entre 9 a 12 veces de exoesqueleto hasta alcanzar un tamaño aproximado de 3.5 cm donde cambian a un color amarillo oscuro. Después de 6 a 7 semanas la larva se convierte en pupa color blanco y poco móvil, durando en esta fase de 6 a 10 d (López et al., 2018).

Posteriormente, emerge el escarabajo, que miden de 15 a 18 mm de largo y 5 mm de ancho aproximadamente. Los escarabajos son color beige alemerger de la pupa y durante el transcurso de dos días cambian a un color marrón hasta volverse totalmente negro. Las hembras pueden llegar a poner alrededor de 160 huevos y tener un tiempo de vida de hasta 3 meses en condiciones de laboratorio. El período de ovoposición varía entre 25 y 140 d dependiendo de las condiciones del medio y disponibilidad de alimento (López et al., 2018).

Los huevos son color blanco, de forma ovalada, con una longitud de 1.8 mm y están cubiertos de polisacáridos. El período de incubación depende de la temperatura siendo de 5 d a 24 °C y de 20 d a 15 °C. Las larvas recién eclosionadas son activas, consumen harina y se desplazan libremente, adquiriendo su máximo desarrollo entre los 89 y 100 d después de mudar entre 9 y 18 veces (López et al., 2018).

2.4 *Tenebrio molitor* como plaga de granos almacenados

Tenebrio molitor es un insecto con hábitos nocturnos, que durante el día suele esconderse en sitios oscuros. La hembra llega a depositar huevecillos sobre el sustrato (en este caso sobre granos de alimentos) y los recubre con una capa compuesta de polisacáridos y proteínas a las cual se adhieren partículas del sustrato alimenticio. Esto ocasiona pérdidas del valor nutritivo y comerciales del 10 a 25 % del producto almacenado. En cuanto a la presencia directa de la plaga en los granos, las principales afectaciones producidas son la pérdida de peso del mismo, la pérdida de capacidad para germinar (Ej. El maíz), mal olor, contaminación con fragmentos del insecto, exoesqueleto mudado y heces, entre otras. Además, la actividad metabólica de los insectos puede dar lugar a

condiciones de temperatura y humedad que favorecen el desarrollo de hongos productores de aflatoxinas como *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. Esto comúnmente está asociado a problemas digestivos, lo que los hace no aptos para el consumo humano y del ganado (Martínez et al., 2018; Plata-Rueda et al., 2021; Shadia et al., 2011; Viñuela et al., 1993).

2.5 Métodos de control de *Tenebrio molitor*

2.5.1. Control físico

2.5.1.1 Temperaturas extremas

Las temperaturas a las que se exponen los insectos mientras se secan los productos básicos suelen ser insuficientes para desinfestarlos completamente, es por ello que modificar las temperaturas de crecimiento óptimo (25-33 °C) es ampliamente usado para su control (Tyagi et al., 2019).

Las temperaturas superiores a 60 °C pueden provocar la muerte de los insectos en segundos, las temperaturas entre 50 y 60 °C en horas o minutos, y las temperaturas entre 43 y 46 °C en horas. Al contrario, el frío mata a los insectos más lentamente. Las temperaturas entre 5 y 15 °C retrasan el desarrollo de los insectos y acaban siendo letales tras exposiciones muy prolongadas. Las temperaturas entre -1 y 3 °C pueden causar la muerte en horas o días, mientras que las temperaturas inferiores a -1 °C pueden causar la muerte más rápido (Hagstrum et al., 2013).

2.5.1.2 Polvos inertes

Hay muchos tipos de polvos inertes: cal, sal común, arena, caolín, cenizas de cáscara de arroz, cenizas de madera, arcillas, polvo de diatomeas, cenizas volcánicas, silicatos sintéticos, etc. Debido a su baja toxicidad para los mamíferos se utilizan para proteger los granos almacenados contra *T. molitor*. Los polvos inertes ejercen sus efectos lentamente a través de varios mecanismos que dan lugar a la deshidratación, especialmente por adsorción de los lípidos cuticulares y, menos importante, por abrasión (Vincent et al., 2003).

López-García et al. (2018) determinaron que la exposición alimentaria crónica a ceniza volcánica causa efectos adversos sobre las larvas de *T. molitor*, provocando su muerte a concentraciones de 30,000 y 50,000 ppm y a una disminución en el tamaño de las larvas a concentraciones de 500, 1,000, y 5,000 ppm.

2.5.1.3 Radiación ionizante

La radiación ionizante proporcionada por los rayos gamma de los isótopos cobalto-60 y cesio-137, es un tratamiento que esteriliza o mata a los insectos al dañar las células y producir radicales libres que rompen los enlaces químicos. El uso de la radiación ionizante para la desinfestación de insectos para disminuir la población de los insectos ha sido aprobado en muchos países incluyendo México (Hallman et al., 2013; Vincent et al., 2003).

Brower (1973) probó la radiación gamma del cobalto-60 para el control de *T. molitor*; determinando que hubo inhibición en el desarrollo a una dosis de radiación entre 5 y 100 krad todas las etapas del insecto, además las hembras adultas fueron más sensibles que los machos a los efectos esterilizantes de la radiación gamma, pero la esterilidad fue completa con dosis de 15 krad y superiores.

2.5.2 Control biológico

2.5.2.1 Hongos entomopatógenos

Dara (2017), demostró que los hongos entomopatógenos como *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Metarhizium brunneum* pueden desempeñar un papel importante en el control de plagas de granos almacenados incluyendo a *T. molitor*. Sin embargo, para el uso de estos microorganismos es necesaria su liberación en altas densidades poblacionales ya que una baja densidad de estos no es suficiente para controlar a la plaga y esto podría representar una desventaja para el control de *T. molitor* (Hagstrum et al., 2013; Lee et al., 2018).

2.5.3 Control químico

La aplicación de insecticidas químicos en granos almacenados consiste en su impregnación en los granos y semillas con productos que presentan con alto poder residual y/o gasificando el área de almacenamiento. Los productos más utilizados son el bromuro de metilo y compuestos organofosforados como fosfuro de aluminio y fosfuro de magnesio (SAGARPA, 2016, ONUDI, 2014).

El bromuro de metilo, es un gas incoloro e inodoro con la fórmula química CH_3Br . Comercialmente se puede encontrar como Embafume ®, Brometano ® y Terabol ®. Su uso para el control de plagas en granos almacenados suele ser utilizado en productos sometidos a cuarentena aplicando una concentración de 30 gm^{-3} por 24 h de exposición a 26.5°C mínimo. Por otra parte, los plaguicidas organofosforados son compuestos derivados del ácido fosfórico; los fosfuros de aluminio (AIP) y fosfuros de magnesio (Mg_3P_2) son fumigantes sólidos que al hidrolizarse liberan gas fosfina o fosfuro de hidrógeno (PH_3), la cual a altas concentraciones resulta letal para los insectos. Las presentaciones comerciales de los fosfuros son: Agrofum ®, Celphos ® y Degesch Platesson ® que vienen en tabletas de 3 g, suelen ser aplicadas de 2-3 pastillas m^3 (IRET-UNA, 2023; NCBI, 2023; SAGARPA, 2016; SEMARNAT, 2013, SEMARNAT, 2022).

2.5.4 Control botánico

Debido uso excesivo de insecticidas químicos sintéticos, surge la necesidad de buscar métodos alternativos que permitan controlar a los insectos plaga, tal es el caso de los insecticidas botánicos, que son derivados de plantas y/o sus partes. En los últimos años, la aplicación de aceites esenciales provenientes de plantas ha llamado mucho la atención como alternativa a los insecticidas químicos sintéticos, estos productos vegetales son muy eficaces, biodegradables y más seguros que sus equivalentes sintéticos (Martínez & Rugama., 2020).

Los puntos fuertes y las limitaciones de cada tipo de control como método de gestión de plagas de *T. molitor* se indican en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Ventajas y desventajas de los métodos de control de *Tenebrio molitor* (Modificado de SAGARPA, 2016).

Método	Ventaja	Desventaja
Temperaturas extremas	<ul style="list-style-type: none"> • De amplio espectro • Bajo riesgo • No produce resistencia de los insectos 	<ul style="list-style-type: none"> • Puede dañar el edificio, el equipo y la mercancía • Difícil conseguir una temperatura uniforme
Polvos inertes	<ul style="list-style-type: none"> • Inocuo al hombre y al medio ambiente 	<ul style="list-style-type: none"> • No recomendado para centros de alto volumen de grano • Requiere un determinado tiempo de exposición • Deja residuos
Radiación ionizante	<ul style="list-style-type: none"> • Alta mortalidad de insectos • Bajo coste operativo 	<ul style="list-style-type: none"> • Mortalidad retardada y a corto plazo de las plagas • Requiere alta seguridad de los trabajadores • Es importante controlar la dosis para no dañar las semillas
Hongos entomopatógenos	<ul style="list-style-type: none"> • Control natural • Son selectivos 	<ul style="list-style-type: none"> • Necesario tener altas humedades, pero puede dañar al grano el exceso de agua
Insecticidas químicos sintéticos	<ul style="list-style-type: none"> • De efecto rápido y buen control. • Penetrante, de acción rápida y amplio espectro • Bajo coste 	<ul style="list-style-type: none"> • Dejan residuos tóxicos • Requieren de equipo especial para aplicarlos y capacitación para manejarlos • Producen resistencia de los insectos
Control botánico	<ul style="list-style-type: none"> • Control natural y económico 	<ul style="list-style-type: none"> • No mata a todos los insectos • Se limita a las áreas que tienen esas plantas

2.5.3.1 Aceites esenciales

Se les llama “aceites esenciales” porque contienen la “esencia” del material vegetal. Los aceites esenciales (AE) son una mezcla de compuestos altamente volátiles que provienen de las plantas (de hojas, tallos, flores, frutos, raíces, etc.) Estos pueden contener alrededor de 300 compuestos químicos, de los cuales solo 2 o 3 tienen concentraciones altas predominando los compuestos terpénicos y el resto son trazas (Figura 2) de compuestos aromáticos y alifáticos de bajo peso molecular (Masyita et al., 2022; Stephane & Jules 2020).

2.5.3.1.1 Terpenos

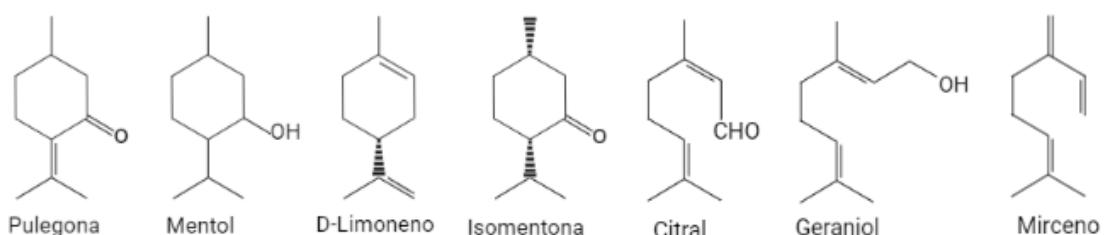
También conocidos como terpenoides o isoprenoides son metabolitos secundarios con estructuras moleculares que contienen cadenas principales de carbono de unidades de isopreno (C_5H_8), siendo los más comunes los mono-, sesqui- y di-terpenos con cadenas de 10 carbonos, 15 carbonos y 20 carbonos, respectivamente (Figura 2). Los terpenos se sintetizan en el citoplasma de las células vegetales a través de la ruta del ácido mevalónico y están altamente asociados a la fisiología del desarrollo de las plantas, así como en las interacciones mutualistas y antagonistas entre plantas-ambiente y planta-insectos, confiriendo en este último caso actividad insecticida contra insectos depredadores (Boncan et al., 2020; Flores-Sánchez et al. 2021; Ninkuu et al., 2021; Stephane & Jules, 2020).

2.6. Actividad insecticida de los aceites esenciales (AE)

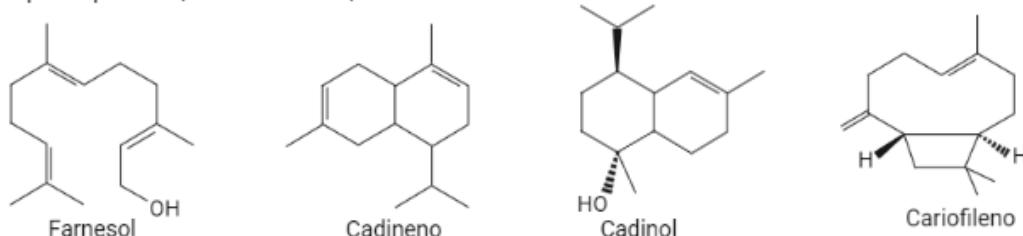
La aplicación de AE en insectos plaga de granos almacenados pueden alterar la digestión de estos, causando repelencia, disuasión y cambios en las respuestas olfativas. También tiene efectos en su fisiología que implican la inhibición del crecimiento, el deterioro del desarrollo, la privación de oxígeno y el agotamiento de la energía. Por otra parte, los terpenos contenidos en los AE actúan sobre el sistema nervioso de los insectos, afectando a los neurotransmisores como la acetilcolina, al ácido γ -aminobutírico, así como a los receptores octopaminérgicos. Las aplicaciones de los AE en insectos pueden actuar a nivel de contacto (a través del sistema tegumentario), por inhalación (a través del

sistema respiratorio) y por vía oral (a través del sistema digestivo) (Plata-Rueda et al., 2021).

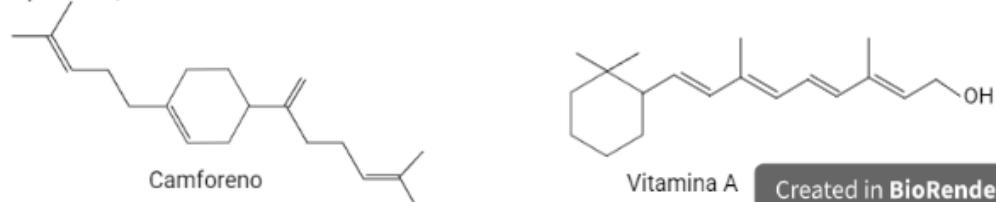
Monoterpenos (10 Carbonos)



Sesquiterpenos (15 Carbonos)



Diterpenos (20 Carbonos)



Created in BioRender.com

Figura 2. Estructuras químicas de algunos terpenos representativos (Fuente propia creado en BioRender).

Se han evaluado la actividad biológica de aceites esenciales de diferentes familias de plantas contra *T. molitor* como Lauraceae, Poaceae, Verbenaceae, Amaryllidaceae y Lamiaceae (Martínez et al., 2017; Plata-Rueda et al., 2017; Plata-Rueda et al., 2021; Wang et al., 2015). En este trabajo nos centramos en la familia lamiácea, ya que esta se caracteriza principalmente por ser una considerable fuente de una gran variedad de compuestos terpénicos (Pérez et al., 2022).

2.6.1 Familia Lamiaceae

En México, la familia Lamiaceae incluye 27 géneros y aproximadamente 512 especies. Una de las características distintivas de esta familia son los terpenos que se encuentran en las glándulas de las plantas. Los contenidos de estas glándulas son responsables de los olores aromáticos y propiedades organolépticas de las plantas, y como consecuencia, estas son usadas en medicina tradicional y en la preparación de alimentos en varias partes del mundo (Pérez et al., 2022).

Un género perteneciente a la familia de las lamiáceas es *Hesperozygis*, género totalmente endémico de América del cual se han reportado 12 especies, 8 de ellas localizadas en Brasil. De los aceites esenciales de *H. ringens* y *H. myrtoides* ya se ha reportado su actividad acaricida e insecticida, respectivamente. Además, se reportó que los componentes mayoritarios del AE fueron monoterpenos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Actividad biológica y terpenos mayoritarios de los aceites esenciales del género *Hesperozygis* (Castilho et al., 2017; Ribeiro et al., 2010; Silva et al., 2014).

Aceite esencial	Componente mayoritario del AE	Organismo objetivo
<i>Hesperozygis ringens</i> (Benth.) Epling	Pulegona (86 %)	<i>Rhipicephalus microplus</i> (Ixodida: Ixodidae)
<i>Hesperozygis ringens</i> (Benth.) Epling	Pulegona (95.18 %) Limoneno (1.28 %)	Larvas de: <i>Acanthagrion</i> sp., <i>Homeoura</i> sp., <i>Ischnura</i> sp., <i>Oxyagrion</i> sp (Odonata: Coenagrionidae)
<i>Hesperozygis myrtoides</i> (A.St.-Hil. ex Benth.) Epling	Isomentona (47.7 %) Pulegona (21.4 %) Limoneno (7.7 %)	<i>R. microplus</i> (Ixodida: Ixodidae)

Por otra parte, las 4 especies restantes de *Hesperozygis* se localizan en México siendo *H. bella*, *H. ciliolata*, *H. pusilla* y *H. marifolia* (de la cual aún no se ha reportado actividad biológica contra insectos o artópodos) (García-Curiel, 1994).

2.7 *Hesperozygis marifolia* (Lamiaceae)

2.7.1 Generalidades

Hesperozygis marifolia (Lamiales: Lamiaceae) es nativa de México, distribuida en las zonas áridas del norte y del centro del país, principalmente encontrada en los estados de Jalisco, Nuevo León, San Luis Potosí e Hidalgo. Esta planta se considera de importancia en la medicina tradicional de estos estados para tratar problemas gastrointestinales y como tranquilizante. Crece a una altitud de 1250-2050 m. Es un arbusto, de 20-50 cm de largo, con hojas de hasta 15 mm de largo (Figura 3). La clasificación taxonómica se muestra en el Cuadro 5 (González-Chávez et al., 2011; IBUNAM, 2019; Pérez et al., 2022).

Cuadro 5. Clasificación Taxonómica del *Hesperozygis marifolia* (Modificado de Schoch, 2020).

Nombre científico	<i>Hesperozygis marifolia</i> (Schauer) Epling
Dominio	Eukarya
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Género	<i>Hesperozygis</i>
Especie	<i>H. marifolia</i>



Figura 3. *Hesperozygis marifolia* (Schauer) Epling. (Obtenido de Red de Herbarios Mexicanos, 2019).

3. Hipótesis

El aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* se compone mayormente de monoterpenos que le confiere actividad insecticida contra *Tenebrio molitor*.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Evaluar la actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* contra *Tenebrio molitor*.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar la actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* en *Tenebrio molitor*.
2. Identificar la composición química del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*.
3. Determinar la actividad insecticida componente mayoritario del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* en *Tenebrio molitor*.

5. Metodología

5.1 Sitio de estudio

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas (LCNI), ubicado en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. La extracción del aceite esenciales se realizó en el Laboratorio de Síntesis Orgánica ubicado en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

5.2 Crianza de *Tenebrio molitor*

Los especímenes de *T. molitor* fueron proporcionados por el LCNI y fueron criados en el mismo lugar. Estos se mantuvieron con dieta artificial a base de trigo y avena comercial (Cuadro 6) en recipientes de plástico (32x78x52 cm) a una temperatura de 25-27 °C, a una humedad relativa del 40 % y con fotoperiodos 10:14 h luz-obscuridad.

Cuadro 6. Formulación para 1 Kg de sustrato administrada (Resendiz-Melgosa, et al., 2023).

Ingrediente	Cantidad
Aserrín de pino	790 g
Avena molida	150 g
Trigo molido	50 g
Zanahoria en rebanadas (0.5 cm)	10 g

5.3 Recolección del material vegetal

Se colectó 1 kg de las partes aéreas (hoja, tallo y flor) de *Hesperozygis marifolia* en el municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí (22° 39' 36", -100° 25' 8.3994") y fue llevada al Laboratorio de Síntesis Orgánica en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí para su tratamiento. La planta fue identificada por el taxónomo José García Pérez, curador del herbario Isidro Palacios de la Universidad

Autónoma de San Luis Potosí. El número de identificación del herbario fue SPLM43012.

5.4 Obtención del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*

El aceite esencial de la muestra vegetal fue extraído por el método de hidrodestilación de acuerdo a la técnica de González-Chávez et al (2011). El procedimiento consistió en colocar material vegetal fresco y cortado en trozos pequeños de 1 cm aproximadamente en un matraz bola de 3 L junto con 1.5 L de agua destilada para obtener el agua floral, posteriormente la extracción del aceite esencial se realizó mediante separación líquido-líquido utilizando éter dietílico (Sigma-Aldrich®) como fase orgánica, la cual se eliminó por destilación en un evaporador rotatorio (Büchi Rotavapor R-200) a 35 °C. Se añadió sulfato de sodio anhidro (Sigma-Aldrich®) para eliminar los residuos de agua y finalmente los residuos de éter dietílico fueron eliminados al vacío. Obtenido el aceite se almacenó en un frasco ámbar a 4 °C.

5.5 Bioensayos para la evaluación de la actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* contra larvas y adultos de *Tenebrio molitor*

Para evaluar la actividad insecticida en larvas y adultos de *T. molitor* se realizaron bioensayos por el método de fumigación de acuerdo a la metodología de Bhaskar-Mishra (2016). Para lo cual prepararon una diluciones de cinco concentraciones de aceite esencial (5, 7, 13, 20 y 50 µL), cada una diluida en 100 µL de acetona (Sigma-Aldrich ®). Posteriormente se cortaron cuadros de 3 cm² de papel filtro Whatman™ #4 y cada uno se impregnó con la mezcla de aceite esencial (105, 107, 113, 120 y 150 µL en cada cuadro de papel). La acetona se dejó evaporar por 1 min y se colocó en la tapa de una caja Petri de vidrio. En cada caja se colocaron 10 larvas de 10^{mo} estadio (identificadas de acuerdo a Morales-Ramos et al., 2015) junto con 0.25 g de harina de trigo y avena, la caja se selló herméticamente con papel Parafilm M®. Las cajas se mantuvieron bajo las condiciones mencionadas en la sección 5.2 y se tomó registro diario de los individuos muertos durante 120 h. El bioensayo se realizó

por cuadriplicado y utilizando acetona como control. En adultos (5-7 días de edad) se realizó la misma metodología.

5.6 Caracterización de la composición del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*

El aceite esencial se diluyó al 2% en cloroformo, utilizando 1 μ L de la muestra para el análisis, se analizó por duplicado. El análisis GC-MS se realizó utilizando un sistema GC 7802A Network acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) 5977E Network (Agilent Technologies, Wilmington, DE, EE.UU.). La separación se realizó utilizando una columna capilar HP-5MS (0.25 mm de diámetro interno x 30 m, 0.25 μ m de espesor de película) (J&W, Folsom, CA, EE.UU.). El inyector se operó en modo splitless a 240 °C, con un flujo de 1 mL min⁻¹, la temperatura del horno se programó a 40 °C durante 3 min, y después se calentó a 3 °C min⁻¹ hasta 240 °C. El MSD se operó a 70 eV; la fuente de iones se ajustó a 150 °C y la línea de transferencia a 240 °C. El aceite esencial se identificó interpretando la fragmentación de sus espectros de masas en el intervalo de masas de 40 a 400 unidades de masa atómica. Para el registro de los datos se utilizó el programa informático MassHunter (Agilent). Los compuestos se identificaron comparando los espectros de masas obtenidos con los de compuestos de referencia del Instituto Nacional de Normas y Tecnología (NIST14). Las identidades de los compuestos se confirmaron mediante el índice de retención de Kovats calculado para cada pico con referencia a los estándares de n-alcanos (C₆-C₂₈) analizados en las mismas condiciones.

5.7 Evaluación de la actividad insecticida de los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*

Una vez identificados los componentes mayoritarios, la pulegona (No. CAS:89-82-7) e isomentona (CAS: 491-076) estos fueron obtenidos de Sigma-Aldrich® cada uno con una pureza superior al 99%. Los bioensayos para evaluar su actividad insecticida se realizaron repitiendo la metodología descrita en la sección 5.5.

5.8 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con pruebas no paramétricas para determinar la normalidad y la homocedasticidad de los datos. También se realizó un análisis de varianza de una vía y una prueba de ajuste de medias de Tukey con un nivel de significación de 0.05 con el programa Systad 9. Finalmente se realizó un análisis Probit para calcular la concentración letal media (CL_{50}) y el tiempo letal medio (TL_{50}) con el mismo programa.

6. Resultados y discusión

6.1 Rendimiento del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*

Después del proceso de hidrodestilación se obtuvo un aceite esencial color verde claro con un característico olor a menta (Figura 4), el rendimiento obtenido fue de 0.81%. González-Chávez et al., (2011), reportaron para esta especie un rendimiento del 2%, el cual fue del más del doble obtenido en la presente investigación, esta diferencia pudo deberse a que la colecta del material vegetal, si bien se hizo en la misma especie y sitio (Cerro de las Comadres, Guadalcázar, San Luis Potosí), varió el año y temporada de colecta (agosto 2007 y octubre 2022).



Figura 4. Aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hesperozygis marifolia* mediante hidrodestilación.

En las plantas es muy común encontrar variabilidad en el rendimiento de aceites esenciales (Mohammed et al., 2023). Factores bióticos y abióticos tales como el ataque de plagas o herbívoros, cambios en la precipitación anual, el frío invernal, la temperatura media del día, la evapotranspiración, los factores edáficos, la edad, la genética de la planta pueden provocar un aumento o disminución en la producción de aceites esenciales en las plantas (Rasgado-Bonilla et al., 2016). Durante la diferencia de años de colecta del material vegetal pudieron haberse presentado algunos de estos factores que pudiesen haber causado un rendimiento menor de aceite esencial comparado al de González-Chávez et al., (2011).

6.2 Actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* contra *Tenebrio molitor*

En el Cuadro 7 se muestra la actividad insecticida del aceite esencial de *H. marifolia* contra la fase larval de *T. molitor*, solamente los tratamientos 0.2 y 0.5 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$ tuvieron una respuesta significativamente diferente respecto al control, registrándose mortalidades acumuladas del 25 y 92.5 %, respectivamente. La CL_{50} calculada a las 120 h fue de 0.29 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$. El TL_{50} registrado en la concentración 0.5 fue inferior a las 72 h.

Cuadro 7. Actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* contra larvas de *Tenebrio molitor*.

Tratamiento ($\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$)	Porcentaje de mortalidad						TL_{50}
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	Acumulado*	
0.5	2.5	22.5	40	20	7.5	92.5 \pm 4.22 a	67.71 h
0.2	0	7.5	7.5	0	10	25 \pm 6.93 b	166.79 h
0.13	0	0	2.5	7.5	0	10 \pm 4.8 bc	181.72 h
0.07	0	2.5	0	2.5	2.5	7.5 \pm 4.22 c	249.97 h
0.05	0	0	0	0	0	0 \pm 0 c	-
Control	0	0	0	0	0	0 \pm 0 c	-

$$\text{CL}_{50} = 0.2997 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1} (0.26 - 0.3394)$$

*Los valores son el promedio de 4 repeticiones (n=40). En el porcentaje de mortalidad acumulada se muestra el error estándar. Los tratamientos a los que se les asignó diferentes letras indican diferencia significativa (Tukey P > 0.05).

En el caso de la fase adulta (Cuadro 8), se pudo observar una respuesta estadísticamente diferente respecto al control a partir de la concentración 0.07 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$ donde se registró una mortalidad del 32 % y un TL_{50} de 132 h. El 100 % de mortalidad se alcanzó a partir de la concentración 0.2 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$ antes de las 72 h. La CL_{50} a las 120 h fue de 0.09 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$.

De acuerdo a los resultados, en un tiempo de 120 h la fase adulta de *T. molitor* presenta más susceptibilidad al aceite esencial en comparación a la fase larvaria.

Mientras que en adultos se alcanzó el 100 % de mortalidad con una concentración de 0.2 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$, la mortalidad máxima alcanzada fue de 92.5 % a la concentración más alta de 0.5 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$, es decir, se utilizó una concentración menor en adultos que en larvas para matar a toda la población.

Cuadro 8. Actividad insecticida del aceite esencial de *Hesperozigis marifolia* contra adultos de *Tenebrio molitor*.

Tratamiento ($\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$)	Porcentaje de mortalidad						TL_{50}
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	Acumulado*	
0.5	5	65	30	0	0	100±0 a	42.06 h
0.2	0	12.5	42.5	45	0	100±0 a	67.36 h
0.13	0	0	10	40	35	85±5.72 a	97.64 h
0.07	0	0	2.5	15	15	32.5±7.5 b	132.09 h
0.05	0	0	0	0	2.5	2.5±2.5 c	130.39 h
Control	0	0	0	0	0	0±0 c	-

$$\text{CL}_{50} = 0.0937 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1} (0.0846 - 0.1027)$$

*Los valores son el promedio de 4 repeticiones (n=40). En el porcentaje de mortalidad acumulada se muestra el error estándar. Los tratamientos a los que se les asignó diferentes letras indican diferencia significativa (Tukey P > 0.05).

De acuerdo a Ahmed et al., (2021) los aceites esenciales pueden presentar efectos repelentes, insecticidas, antialimentarios, inhibidores del crecimiento, inhibidores de la oviposición, ovicidas y efectos reductores del crecimiento en una variedad de insectos. De acuerdo a los resultados de este trabajo la mortalidad acumulada de todos los tratamientos tanto en larvas como en adultos fueron significativamente diferentes a los controles, esto quiere decir que el aceite esencial de *H. marifolia* presentó actividad insecticida contra larvas y adultos de *T. molitor* a partir de una concentración de 0.3 $\mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$ en donde al menos el 50 % de la población murió a las 48 h.

Podemos comparar los resultados con otras investigaciones en las que se evaluó la actividad biológica de aceites esenciales de otras plantas pertenecientes a la

familia Lamiaceae contra insectos plaga de granos almacenados. En el trabajo de Ogendo et al., (2008) el aceite esencial de *Ocimum gratissimum* tuvo valores de CL₅₀ de 0.4 y 0.23 mL L aire⁻¹ contra *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) y *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), respectivamente, a 120 h de tratamiento. Los aceites esenciales de *Mentha piperata* y la *Mentha spicata* también han presentado actividad insecticida contra *T. castaneum*, con CL₅₀ de 25.8 y 35.6 μ l L aire⁻¹, respectivamente (Lee et al., 2002). En otro trabajo, el aceite esencial de *Lavandula angustifolia* tuvo una CL₅₀ de 48.97 μ l mL L aire⁻¹ contra adultos de *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) a las 72 h (Sayada et al., 2022).

También se pudo observar que los adultos presentaron mayor susceptibilidad al aceite esencial en comparación a las larvas. En trabajos anteriores se reportó que las larvas de otros insectos plaga de granos almacenados presentaron más resistencia al aceite esencial en comparación a los adultos. Por ejemplo, en el trabajo Wang et al., (2006), determinaron que el aceite esencial de *Artemisia vulgaris* a concentraciones de 8 mL mL⁻¹ presentó mortalidad del 100 % en adultos de *T. castaneum*, mientras que en larvas la mortalidad fue del 52 %. En otro trabajo, Huang et al., (2000) también probaron que el aceite esencial de *Elletaria cardamomum* tuvo un porcentaje de mortalidad mayor en adultos que en larvas de *T. castaneum*, siendo del 100 y 24 %, respectivamente, utilizando concentraciones de aceite esencial de 1.2 mg cm⁻² en adultos y 2.52 mg cm⁻² en larvas.

6.3 Composición química del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*

En resultados del análisis de la composición química del aceite esencial de *H. marifolia* fueron identificados 27 compuestos que correspondieron al 99.12 % de la composición del aceite (Cuadro 9). La isomentona (55.27 %) y la pulegona (37.39 %) fueron los compuestos más abundantes, representando ambos el 92.66 % de la composición química, el 6.46% se dividió en los componentes restantes.

Cuadro 9. Composición química del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*.

Compuesto	Rt	Abundancia relativa (%)	KI _R	KI _C
α-Pineno	10.64	0.05 ± 0.01	929	895
Canfeno	11.26	0.04 ± 0.01	943	916
3-Metilciclohexanona	11.48	0.18 ± 0.00	945	923
β-Pineno	12.54	0.05 ± 0.01	970	959
3-Octenol	12.93	0.83 ± 0.13	963	972
3-Octanona	13.27	0.04 ± 0.02	963	983
3-Octanol	13.67	0.12 ± 0.00	985	997
Limoneno	15.04	0.09 ± 0.00	1020	1019
Eucaliptol	15.21	0.02 ± 0.01	1023	1029
2-Feniletanal	15.79	0.03 ± 0.01	1048	1040
Linalool	18.61	0.89 ± 0.14	1081	1096
Isomentona	22.06	55.27 ± 0.60	1146	1152
Isopulegona	22.30	0.94 ± 0.06	1159	1175
α-Terpineol	22.89	0.16 ± 0.06	1172	1187
Pulegona	25.52	37.39 ± 0.95	1216	1246
Piperitona	25.85	0.22 ± 0.01	1243	1254
Piperitenona	29.61	0.11 ± 0.00	1340	1338
Eugenol	30.36	0.02 ± 0.00	1363	1355
Ácido 8-Metil-6-nonenoico	31.11	0.09 ± 0.00	1372	1372
Jasmona	31.89	0.15 ± 0.01	1363	1389
Cariofileno	32.99	2.28 ± 0.02	1424	1415
Aromandreno	33.73	0.02 ± 0.00	1439	1434
Humuleno	34.33	0.06 ± 0.05	1454	1449
α-Farneseno	36.68	0.01 ± 0.00	1499	1508
6-epi-shyobunol	37.03	0.01 ± 0.00	1505	1517
δ-Cadineno	37.21	0.03 ± 0.01	1514	1521
Óxido de cariofileno	39.48	0.02 ± 0.01	1576	1578
Total		99.12		

Tiempo de retención (Rt), índices de Kovats en la literatura (KI_R) e índices de Kovats calculados (KI_C).

Al igual que en este trabajo, González-Chávez et al, (2011) reportaron que la pulegona (40.75 %) y la isomentona (30.34 %) fueron los componentes mayoritarios del aceite esencial, sin embargo, en este caso la pulegona tuvo mayor presencia que la isomentona. En otro trabajo Pérez et al, (2022) identificaron al neomentol (76.35 %) y a la pulegona (11.02 %) como los componentes más abundantes del aceite esencial.

6.4 Evaluación de la actividad insecticida de los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* contra *Tenebrio molitor*

6.4.1 Bioensayos de la isomentona contra *Tenebrio molitor*

En el cuadro 10 se observa que la isomentona (Iso), monoterpeno mayoritario del aceite esencial de *H. marifolia* no presentó actividad insecticida contra las larvas de *T. molitor*. Se evaluaron cuatro concentraciones, las cuales no hubo mortalidad de la población en un periodo de 120 h y por lo tanto no se calculó la CL₅₀, así como tampoco los TL₅₀.

Cuadro 10. Actividad insecticida de la isomentona contra larvas de *Tenebrio molitor*.

Tratamiento (μL Iso μL acetona $^{-1}$)	Porcentaje de mortalidad						TL ₅₀
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	Acumulado*	
0.1	0	0	0	0	0	0±0 a	-
0.07	0	0	0	0	0	0±0 a	-
0.03	0	0	0	0	0	0±0 a	-
0.01	0	0	0	0	0	0±0 a	-
Control	0	0	0	0	0	0±0 a	-

CL₅₀= -

*Los valores son el promedio de 4 repeticiones (n=40). En el porcentaje de mortalidad acumulada se muestra el error estándar. Los tratamientos a los que se les asignó diferentes letras indican diferencia significativa (Tukey P > 0.05).

En adultos de *T. molitor* (Cuadro 11), se observó respuesta estadísticamente diferente respecto al control utilizando concentraciones de 0.07 y 0.1 μL Iso μL acetona $^{-1}$ con mortalidades acumuladas de 23.33 y 70 %, respectivamente. La CL $_{50}$ fue de 0.087 μL Iso μL acetona $^{-1}$ en un periodo de 120 h. El TL $_{50}$ menor fue de 73.02 h y el mayor de 145.7 h. Al igual que en la sección 6.2, los adultos de *T. molitor* fueron más susceptibles a la isomentona en comparación a la fase larvaria.

Cuadro 11. Actividad insecticida de la isomentona contra adultos de *Tenebrio molitor*

Tratamiento (μL Iso μL acetona $^{-1}$)	Porcentaje de mortalidad						TL $_{50}$
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	Acumulado*	
0.1	0	40	30	0	0	70±10.5 a	73.02 h
0.07	0	0	6.7	13.33	3.3	23.33±7.85 b	145.7 h
0.03	0	0	0	0	0	0±0 c	-
0.01	0	0	0	0	0	0±0 c	-
Control	0	0	0	0	0	0±0 c	-

$$\text{CL}_{50} = 0.0874 \text{ } \mu\text{L} \text{ Iso } \mu\text{L} \text{ acetona}^{-1} (0.0766-0.0981)$$

*Los valores son el promedio de 4 repeticiones (n=40). En el porcentaje de mortalidad acumulada se muestra el error estándar. Los tratamientos a los que se les asignó diferentes letras indican diferencia significativa (Tukey P > 0.05).

Hasta ahora sólo se han reportado dos estudios relacionados a la actividad insecticida de la isomentona. En 1999, Morgan & Wilson, reportaron que la isomentona presentó actividad insecticida contra otros insectos nocturnos, como *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) con una dosis letal (DL $_{50}$) de 3.1 mg g $^{-1}$; caso contrario, Fan et al., (2023), reportaron que el mismo no presentó actividad insecticida al ser evaluada contra *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Laemophloeidae).

Por otra parte, su isómero la mentona (Figura 5), sí ha presentado actividad insecticida. De acuerdo con Pang et al., (2020), la mentona presentó actividad

insecticida contra *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Ptinidae), *T. castaneum*, y *Liposcelis bostrychophila* (Psocodea: Liposcelididae), mostrando CL₅₀ de 14.8, 3, y 0.2 mg L aire⁻¹, respectivamente. En otro trabajo, Herrera et al., (2015), la mentona también presentó actividad contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) con CL₅₀ de 85.5 µL L aire⁻¹ y recientemente en 2021, Fouad et al., determinaron su actividad contra *S. oryzae* a una CL₅₀ de 49.26 µL mL⁻¹.

A pesar de que las moléculas isoméricas pudiesen tener las mismas propiedades físicas y químicas, pueden presentar actividades biológicas, metabólicas y toxicológicas completamente diferentes en cada uno de los sistemas biológicos (Wu et al., 2011). Por ejemplo, entre los isómeros orto- y meta-cimeno, el orto-cimeno (CL₅₀= 10.8 mg L aire⁻¹) presentó una mayor actividad insecticida en comparación al meta-cimeno (CL₅₀= 12.3 mg L aire⁻¹) al ser evaluados contra *T. castaneum*, en este trabajo se sugiere que la posición del metilo y el isopropilo presentes en el cimeno juegan un papel importante en la actividad insecticida de este (Feng et al., 2021).

Como en el caso anterior, la diferencia en la conformación cis o trans del metil y del isopropil presentes en la moléculas de isomentona y mentona (Figura 5) pudiesen estar relacionadas con su actividad insecticida, en el caso de la isomentona, se sugiere que su conformación cis puede estar afectando negativamente la actividad insecticida contra *Tenebrio molitor*, sin embargo, se necesitan más estudios para confirmar esto.

Adicionalmente, es importante destacar que en el tratamiento 0.07 µL Iso µL acetona⁻¹ se observó que la presencia de la isomentona promovió la actividad antialimentaria, que es la respuesta a una sustancia modificadora del comportamiento mediada periféricamente, es decir, que actúa directamente sobre la quimiosensilla de los insectos, dando como resultado la disuasión de la alimentación" (Koul., 2016). En este trabajo se sugiere que la isomentona actuó como una molécula antialimentaria, ya que los adultos dejaron de alimentarse con la dieta administrada, si bien no era el objetivo del trabajo evaluar la ingesta de la dieta, no se percibieron cambios en la disminución de esta a causa de la

alimentación de los insectos. También se sugiere que la isomentona pudo haber ocasionado una alteración conducta de *T. molitor* hacia su dieta, lo cual promovió que estos comenzaran a comerse entre ellos hasta causar su muerte tal como se muestra en la Figura 6. Es importante resaltar que esta especie no presenta hábitos de canibalismo.

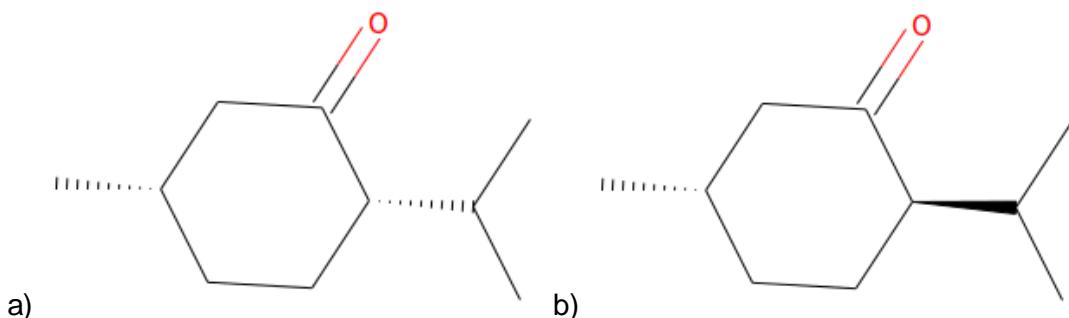


Figura 5. Estructuras químicas de la a) isomentona en contraste a la b) mentona (Fuente propia creado en ChemPub). Se puede observar que el isopropil y el metil de la isomentona se encuentran en el mismo plano (conformación cis), mientras que en la mentona se encuentran en planos contrarios (conformación trans).

Si bien no se han reportado trabajos de terpenos que promuevan el canibalismo entre insectos, sí existen reporte de monoterpenos que promueven la actividad antialimentaria. Por ejemplo, Szczepanik et al., (2005), determinaron que la pulegona y el isopulegol puden actuar como antialimentarios contra *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). En otro trabajo, de Elguea-Culebras et al., (2017) determinaron que el bisabolol fue el que presentó mayor actividad antialimentaria seguido del carvacrol, (+)-terpinen-4-ol y timol contra *L. decemlineata*. Y recientemente en 2020, Abdelgaleil et al, reportaron que el trans-cinamaldehído, el α -terpineno, el citronelal y el 1,8-cineol actuaron como antialimentarios contra *S. littoralis*. Sin embargo, para el caso de la isomentona se requieren más estudios para determinar su actividad antialimentaria y promoción del canibalismo.

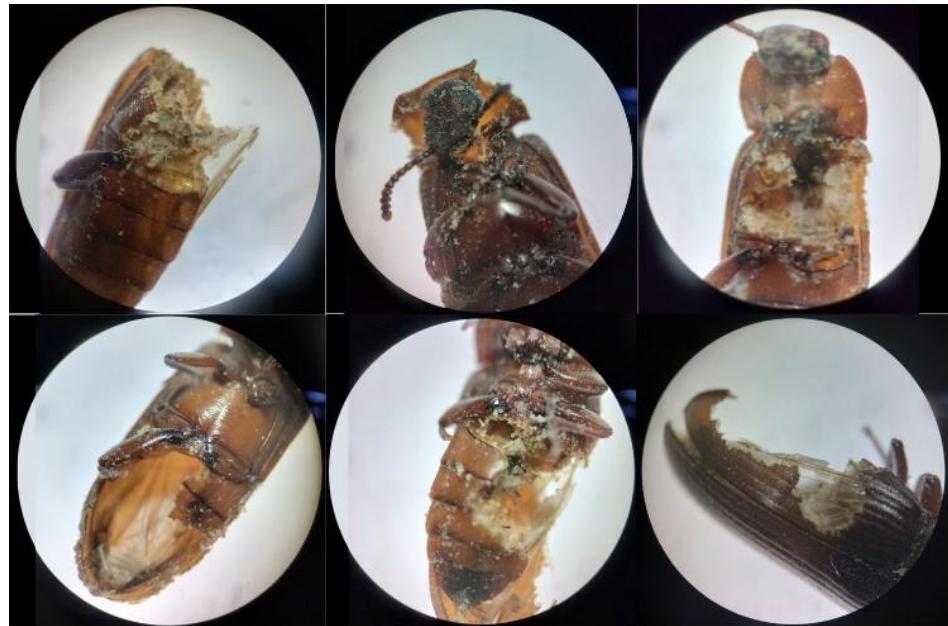


Figura 6. Cadáveres de *T. molitor* adultos canibalizados en presencia de $0.07 \mu\text{L}$ Iso μL acetona $^{-1}$.

6.4.2 Bioensayos de la pulegona contra *Tenebrio molitor*

En el cuadro 12 se muestra la actividad insecticida del segundo monoterpeno con mayor presencia en el AE de *H. marifolia*, la pulegona (Pul) contra larvas de *T. molitor*. Se registró actividad estadísticamente diferente respecto al control a partir de la concentración de $0.07 \mu\text{L}$ Pul μL acetona $^{-1}$ en donde se registró una mortalidad acumulada del 27.5 %. La mortalidad acumulada fue superior al 97 % en los tratamientos de 0.5, 0.2 y $0.13 \mu\text{L}$ Pul μL acetona $^{-1}$ y con TL₅₀ menores a 72 h en los tres casos. La CL₅₀ calculada a las 120 h fue de $0.032 \mu\text{L}$ Pul μL acetona $^{-1}$.

En el caso de la fase adulta (Cuadro 13), se pudo observar una respuesta estadísticamente diferente respecto al control en todos los tratamientos registrándose una mortalidad total de la población en todos los tratamientos a las 48 h en los tratamientos 0.5, 0.2 y $0.13 \mu\text{L}$ Pul μL acetona $^{-1}$ y a las 120 h en los tratamientos restantes. La CL₅₀ a las fue de $0.58 \mu\text{L}$ Pul μL acetona $^{-1}$ utilizando los datos a las 24 h. El TL₅₀ menor fue de 24.92 h y el mayor de 66.26 h

Cuadro 12. Actividad insecticida de la pulegona contra larvas de *Tenebrio molitor*.

Tratamiento ($\mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1}$)	Porcentaje de mortalidad						TL_{50}
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	Acumulado*	
0.5	37.5	60	2.5	0	0	100±0 a	27.4 h
0.2	15	57.5	27.5	0	0	100±0 a	32.1 h
0.13	7.5	37.5	27.5	20	5	97.5±2.5 a	56.3 h
0.07	5	2.5	2.5	10	7.5	27.5±7.1 b	172.5 h
0.05	0	0	0	2.5	5	7.5±4.2 c	168.3 h
Control	0	0	0	0	0	0±0 c	-

$$\text{CL}_{50} = 0.032 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1} (0.029 - 0.036)$$

*Los valores son el promedio de 4 repeticiones (n=40). En el porcentaje de mortalidad acumulada se muestra el error estándar. Los tratamientos a los que se les asignó diferentes letras indican diferencia significativa (Tukey P > 0.05).

Cuadro 13. Actividad insecticida de la pulegona contra adultos de *Tenebrio molitor*.

Tratamiento ($\mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1}$)	Porcentaje de mortalidad						TL_{50}
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h	Acumulado*	
0.5	40	60	0	0	0	100±0 a	24.92h
0.2	15	85	0	0	0	100±0 a	27.39 h
0.13	15	85	0	0	0	100±0 a	27.39 h
0.07	2.5	32.5	52.5	7.5	5	100±0 a	55.65 h
0.05	0	12.5	55	27.5	5	100±0 a	66.26 h
Control	0	0	0	0	0	0±0 b	-

$$\text{CL}_{50} = 0.5828 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1} (0.4256 - 0.66)$$

*Los valores son el promedio de 4 repeticiones (n=40). En el porcentaje de mortalidad acumulada se muestra el error estándar. Los tratamientos a los que se les asignó diferentes letras indican diferencia significativa (Tukey P > 0.05).

Estudios han reportado la actividad de la pulegona como un potencial insecticida en relación a diversos insectos plaga de granos almacenados. En 2014, Herrera et al., evaluaron la actividad insecticida mediante fumigación de seis monoterpenos (R-carvona, S-carvona, pulegona, α -tujona, mentona y ocimenona) contra *S. zeamais*, en donde la pulegona resultó ser la más tóxica de las seis con una CL_{50} de $11.8 \mu\text{L L aire}^{-1}$. La mortalidad de la población alcanzó el 100 % a las 24 h utilizando una concentración de $50 \mu\text{L L aire}^{-1}$. En otro trabajo Fan et al., (2023), determinaron que la pulegona tenía actividad insecticida contra *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Laemophloeidae) adultos con una CL_{50} de 8.9 mL L^{-1} a las 72 h. Y recientemente en 2024, Ramadan et al., determinaron que la pulegona a concentraciones de 250 y 500 mg kg^{-1} presentó una actividad insecticida contra tres insectos plaga de granos almacenados (*R. dominica*, *S. oryzae* y *T. castaneum*) con mortalidad del 100 % a los 14 d.

Al igual que en el trabajo de Ramadan et al., (2024) la pulegona pudiera estar afectando las enzimas carboxilesterasa, la peroxidasa y la superóxido dismutasa sobre *T. molitor*, sin embargo, se requieren experimentos complementarios a este trabajo. De acuerdo a los bioensayos realizados con la isomentona y la pulegona, se sugiere que la presencia de este último monoterpeno en el aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* es mayormente responsable de su actividad insecticida contra *Tenebrio molitor*.

7. Conclusiones

El aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* presentó actividad insecticida contra larvas y adultos de *Tenebrio molitor* con $CL_{50}=0.29 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$ y $0.09 \mu\text{L AE } \mu\text{L acetona}^{-1}$, respectivamente.

La isomentona con abundancia de 55.27 % y la pulegona con abundancia de 37.39 % fueron los componentes mayoritarios identificados en el aceite esencial de *Hesperozygis marifolia*.

La pulegona presentó actividad insecticida contra larvas y adultos de *Tenebrio molitor* con $CL_{50}=0.03 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1}$ y $0.58 \mu\text{L Pul } \mu\text{L acetona}^{-1}$, respectivamente.

En el caso de la isomentona no presentó actividad insecticida contra larvas, pero en sí en adultos con una $CL_{50}= 0.0874 \mu\text{L Iso } \mu\text{L acetona}^{-1}$. En bioensayo se observó una conducta de canibalismo a una concentración de $0.07 \mu\text{L Iso } \mu\text{L acetona}^{-1}$.

En este trabajo se demostró que el aceite esencial de *Hesperozygis marifolia* y la pulegona pueden ser potencialmente utilizados como control botánico para el manejo de *Tenebrio molitor*.

8. Perspectivas

Como perspectivas se tendría que realizar más estudios en otros modelos de insectos plaga para aumentar su espectro de aplicación del aceite esencial de *H. marifolia* y de la pulegona, adicionalmente, se necesitan buscar nuevas opciones de aplicaciones para eficientar su actividad biológica. En cuanto a la isomentona se requieren más estudios en diferentes modelos biológicos para determinar de manera confiable si presenta actividad insecticida, antialimentaria y conducta de canibalismo.

9. Referencias

- Abdelgaleil**, S., Abou-Taleb, H., Al-Nagar, N., & Shawir, M. (2020). Antifeedant, growth regulatory and biochemical effects of terpenes and phenylpropenes on *Spodoptera littoralis* Boisduval. International Journal of Tropical Insect Science, 40(2), 423–433. <https://doi.org/10.1007/S42690-019-00093-8/METRICS>
- Ahmed**, N., Alam, M., Saeed, M., Ullah, H., Iqbal, T., Al-Mutairi, K., Shahjeer, K., Ullah, R., Ahmed, S., Ahmed, N., Khater, H., Salman, M., Ahmed, N., Alam, M., Saeed, M., Ullah, H., Iqbal, T., Al-Mutairi, K., Shahjeer, K., Salman, M. (2021). Botanical Insecticides Are a Non-Toxic Alternative to Conventional Pesticides in the Control of Insects and Pests. Global Decline of Insects. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.100416>
- ASERCA**. Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios (2018). Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Recuperado de: <https://www.gob.mx/aserca/articulos/almacenamiento-y-conservacion-de-granos-y-semillas?idiom=es>
- Bhaskar-Mishra**, B., Tripathi, C., Bhuwan-Bhaskar, C., Bhaskar-Mishra, C. & Tripathi, S. (2016). Impact of *Syzygium aromaticum* (L.) essential oil as fumigant against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Entomology and Zoology Studies, 4(6), 811-816. <https://doi.org/10.72418.134>
- Boncan**, D., Tsang, S., Li, C., Lee, I., Lam, H., Chan, T., & Hui, J. (2020). Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. International Journal of Molecular Sciences, 21(19), 1–19. <https://doi.org/10.3390/IJMS21197382>
- Božović**, M., Ragno, R. & Tzakou, O. (2017). *Calamintha nepeta* (L.) Savi and its main essential oil constituent pulegone: Biological activities and chemistry. Molecules, 22(2), 290. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES22020290>
- Brower**, J. (1973). Sensitivity of *Tenebrio molitor* and *T. obscurus* to gamma irradiation. Journal of Economic Entomology, 66(5), 1175–1180. <https://doi.org/10.1093/JEE/66.5.1175>
- Castilho**, C., Fantatto, R., Gaínza, Y., Bizzo, H., Barbi, N., Leitão, S. & Chagas, A. (2017). In vitro activity of the essential oil from *Hesperozygis myrtoides* on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Haemonchus contortus*. Revista

Brasileira de Farmacognosia, 27(1), 70–76.
<https://doi.org/10.1016/J.BJP.2016.08.005>

CEDRSSA. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2020). Reporte. Distribución de granos básicos. Lugar de adquisición y compra. Recuperado de: http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/6Distribucio%CC%81n_granos_ba%CC%81sicos.pdf

Dara, S. (2017). Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with some fungicides used in California strawberry. *The Open Plant Science Journal*, 10(1), 29–34. <https://doi.org/10.2174/1874294701710010029>

de Elguea-Culebras, G., Sánchez-Vioque, R., Berruga, M., Herraiz-Peñalver, D., & Santana-Méridas, O. (2017). Antifeedant effects of common terpenes from Mediterranean aromatic plants on *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(2), 475–485. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017005000034>

de Sena-Filho, J., Soares de Almeida, A., Pinto-Zevallos, D., Barreto, I., Cabral de Holanda-Cavalcanti, S., Nunes, R., Teodoro, A., Xavier, H., Barbosa Filho, J., Guan, L., Neves, A., & Duringer, J. (2023). From plant scent defense to biopesticide discovery: Evaluation of toxicity and acetylcholinesterase docking properties for Lamiaceae monoterpenes. *Crop Protection*, 164, 106126. ISSN 0261-2194. <https://doi.org/10.1016/J.CROP.2022.106126>

Fan, Q., Xie, Y., Zhang, T., Sun, T., Yu, Y., Li, Y., Liu, X., Jin, J., & Zhou, G. (2023). Pulegone, a component of *Schizonepeta tenuifolia* volatiles can act as an effective fumigant of the rusty grain beetle *Cryptolestes ferrugineus*. *Industrial Crops and Products*, 202. ISSN 0926-6690. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.117039>

Feng, Y., Zhang, X., Wang, Y., Chen, Z., Lu, X., Du, Y., & Du, S. (2021). The potential contribution of cymene isomers to insecticidal and repellent activities of the essential oil from *Alpinia zerumbet*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 157. ISSN 0964-8305. <https://doi.org/10.1016/J.IBIOD.2020.105138>

- Flores-Sánchez, M. (2021).** Evaluación de la actividad de los aceites esenciales de *Hyptis albida* y *Eupatorium glabratum* contra *Spodoptera frugiperda* [Trabajo de tesis, Universidad Autónoma de Querétaro]. Recuperado de: <http://ring.uaq.mx/handle/123456789/3117>
- Fouad, H., de Souza Tavares, W., & C Zanuncio, J. (2021).** Toxicity and repellent activity of monoterpane enantiomers to rice weevils (*Sitophilus oryzae*). Pest Management Science, 77(7), 3500–3507. <https://doi.org/10.1002/PS.6403>
- García-Curiel, M. (1994).** "Estudio fitoquímico de *Hesperozygis marifolia* (Labiatae)". [Trabajo de tesis, Universidad Nacional Autónoma de México]. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/3512099>
- González-Chávez, M., Cárdenas-Ortega, N., Méndez-Ramos, C. & Pérez-Gutiérrez, S. (2011).** Fungicidal properties of the essential oil of *Hesperozygis marifolia* on *Aspergillus flavus* link. Molecules, 16(3), 2501–2506. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES16032501>
- Hagstrum, D., Klejdysz, T., Subramanyam, B. & Nawrot, J. (2013).** PEST MANAGEMENT. En: Hagstrum, D. et al Atlas of Stored-Product Insects and Mites. 1er ed. Elsevier, p. 577–589. ISBN: 9781891127755. <https://doi.org/10.1016/B978-1-891127-75-5.50010-1>
- Hallman, G. (2013).** Control of stored product pests by ionizing radiation. Journal of Stored Products Research, 52, 36–41. <https://doi.org/10.1016/J.JSPR.2012.10.001>
- Herrera, J., Zunino, M., Dambolena, J., Pizzolitto, R., Gañan, N., Lucini, E., & Zygadlo, J. (2015).** Terpene ketones as natural insecticides against *Sitophilus zeamais*. Industrial Crops and Products, 70, 435–442. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.03.074>
- Herrera, J., Zunino, M., Massuh, Y., Pizzolitto, R., Dambolena, J., Gañan, N., & Zygadlo, J. (2014).** Fumigant toxicity of five essential oils rich in ketones against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). AgriScientia, 31(1), 35–41. <https://doi.org/10.31047/1668.298X.V31.N1.9839>
- Huang, Y., Lam, S., & Ho, S. (2000).** Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and: *Tribolium*

castaneum (Herbst). Journal of Stored Products Research, 36(2), 107–117.
[https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(99\)00040-5](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(99)00040-5)

IBUNAM. Departamento de Botánica, Instituto de Biología. (2019). *Hesperozygis marifolia* (Schauer) Epling, ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. Recuperado de: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:560411>

IRET-UNA. Instituto Regional de Estudios en Sustancias Tóxicas de la Universidad Nacional. (2023). Manual de plaguicidas de Centroamérica: Fosfuro de aluminio. Recuperado de: <http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/base-de-datos-menu/297-fosfuro-de-aluminio>.

Koul, O. (2016). Antifeedant Phytochemicals in Insect Management (so Close yet so Far). Ecofriendly Pest Management for Food Security, 525–544.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00017-8>

Lee, B., Lee, S., Annis, P., Pratt, S., Park, B., & Tumaalii, F. (2002). Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red Flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. Journal of Asia-Pacific Entomology, 5(2), 237–240.
[https://doi.org/10.1016/S1226-8615\(08\)60158-2](https://doi.org/10.1016/S1226-8615(08)60158-2)

Lee, S., Lee, B., Choi, W., Park, B., Kim, J., & Campbell, B. (2001). Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Pest Management Science, 57(6), 548–553.
<https://doi.org/10.1002/PS.322>

Lee, S., Lee, M., Kim, S., Kim, J., Park, S., Li, D., Shin, T., Nai, Y., & Kim, J. (2018). Genomic analysis of the insect-killing fungus *Beauveria bassiana* JEF-007 as a biopesticide. Scientific Reports, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30856-1>

Lima, R., Cardoso, M., Moraes, J., Carvalho, S., Rodrigues, V., & Guimarães, L. (2011). Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (coleoptera: tenebrionidae). Ciência e Agrotecnologia, 35(4), 664–671.
<https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000400004>

- López**, D. Vanegas, V. Ruiz-Urquijo, J. & Jiménez, A. (2018). Diseño de un sistema de costos para la producción de *Tenebrio molitor* (gusano de harina) en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico. En: López, D. et al. Costos de Producción pecuaria: Estudios de caso en el trópico alto colombiano. 1er ed. Entrelibros e-book. p.79-102. ISBN: 978-958-5550-00-1. Recuperado de: https://www.entrelibros.co/libros/ver/1500/COSTOS_DE_PRODUCCION_PECUARIA_ESTUDIOS_DE_CASO_EN_EL_TROPICO_ALTO_COLOMBIANO
- López-García**, G., Buteler, M., & Stadler, T. (2018). Effects of dietary intake of volcanic ash from Puyehue Cordon Caulle on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae under laboratory conditions. The Florida Entomologist Journal, 101(1), 97–101. <https://doi.org/10.1653/024.101.0117>
- Mariod**, A., Mohame, S. & Hissein, I. (2017). *Tenebrio molitor* mealworm. En: Mariod et al. Unconventional oilseeds and oil sources. 1er ed. Elsevier. p.331-336. ISBN: 9780128134337. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809435-8.00050-0>
- Martínez**, E., & Rugama, R. (2020). Insecticidas botánicos registrados y no registrados en Nicaragua. Revista Universitaria Del Caribe, 25(02), 131–141. <https://doi.org/10.5377/RUC.V25I02.10483>
- Martínez**, L., Plata-Rueda, A., Colares, H., Campos, J., dos Santos, M., Fernandes, F., Serrão, J., & Zanuncio, J. (2018). Toxic effects of two essential oils and their constituents on the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. Bulletin of Entomological Research, 108(6), 716–725. <https://doi.org/10.1017/S0007485317001262>
- Masyita**, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. bin, Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. Food Chemistry: X, 13, 100217. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2022.100217>
- Medrano**, L. (2019). Larvas de gusano de harina (*Tenebrio molitor*) como alternativa proteica en la alimentación animal. [Trabajo de tesis, Universidad Nacional Abierta y a Distancia]. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/28001>
- Mohammed**, H., Abd-Elraouf, M., Sulaiman, G., Almahmoud, S., Hamada, F., Khan, R., Hegazy, M., Abd-El-Wahab, M., Kedra, T., & Ismail, A. (2023). Variability in

the volatile constituents and biological activities of *Achillea millefolium* L. essential oils obtained from different plant parts and by different solvents. Arabian Journal of Chemistry, 16(9), 105103. <https://doi.org/10.1016/J.ARABJC.2023.105103>

Morgan, E., & Wilson, I. (1999). 8.05 *Insect Hormones and Insect Chemical Ecology*. En: Comprehensive Natural Products Chemistry. 1er ed. Elsevier. P 263-675. ISBN 9780080912837. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-091283-7.00053-9>.

Mariod, A., Mohame, S. & Hissein, I. (2017). *Tenebrio molitor* mealworm. En: Mariod et al. Unconventional oilseeds and oil sources. 1er ed. Elsevier. p.331-336. ISBN: 9780128134337. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809435-8.00050-0>

NCBI. National Center for Biotechnology Information. (2023). PubChem Compound Summary for CID 24404, Phosphine. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phosphine>.

NIST. National Institute of Standards and Technology. (2023). Pulegone. Disponible en: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C89827&Mask=200>

Ninkuu, V., Zhang, L., Yan, J., Fu, Z., Yang, T., & Zeng, H. (2021). Biochemistry of terpenes and recent advances in plant protection. In International Journal of Molecular Sciences (Vol. 22, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22115710>

Ogendo, J., Kostyukovsky, M., Ravid, U., Matasyoh, J., Deng, A., Omolo, E., Kariuki, S., & Shaaya, E. (2008). Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. Journal of Stored Products Research, 44(4), 328–334. <https://doi.org/10.1016/J.JSPR.2008.02.009>

ONUDI. Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial. (2014). Alternativas al Bromuro de Metilo: Proyecto Terminal Eliminación del Bromuro de Metilo. Recuperado de: https://www.unido.org/sites/default/files/files/2021-9/Alternativas_al_bromuro_de_metilo_Proyecto_terminal_Chile_UNIDO_ES_2014.pdf

Pang, X., Feng, Y., Qi, X., Wang, Y., Almaz, B., Xi, C., & Du, S. (2020). Toxicity and repellent activity of essential oil from *Mentha piperita* Linn. leaves and its major monoterpenoids against three stored product insects. Environmental Science

and Pollution Research, 27(7), 7618–7627. <https://doi.org/10.1007/S11356-019-07081-Y>/METRICS

Pérez, E., López, B., Reyes, J. & Villavicencio, M. (2022). Flora útil de Hidalgo. Avances en la documentación y evaluación de la actividad biológica. 1er ed. Universidad Autónoma Del Estado de Hidalgo. ISBN: 978-607-482-706-4 Recuperado de: <https://doi.org/10.29057/books.86>

Plata-Rueda, A., Martínez, L., Rolim, G., Coelho, R., Santos, M., Tavares, W., Zanuncio, J., & Serrão, J. (2020). Insecticidal and repellent activities of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoids (citral and geranyl acetate) against *Ulophoides dermestoides*. Crop Protection, 137, 105299. ISSN 0261-2194. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2020.105299>

Plata-Rueda, A., Martínez, L., Santos, M., Fernandes, F., Wilcken, C., Soares, M., Serrão, J., & Zanuncio, J. C. (2017). Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). Scientific Reports, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep46406>

Plata-Rueda, A., Zanuncio, J., Serrão, J., & Martínez, L. (2021). *Origanum vulgare* essential oil against *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae): composition, insecticidal activity, and behavioral response. Plants, 10(11). <https://doi.org/10.3390/PLANTS10112513>

Ramadan, G., Shawir, M., & Abdelgaleil, S. (2024). Efficacy of pulegone, and eugenol alone and in combination with synthetic insecticides for the management of three stored product beetle pests. Journal of Stored Products Research, 105, 102214. <https://doi.org/10.1016/J.JSPR.2023.102214>

Rasgado-Bonilla, F., Soto-Hernández, R., Conde-Martínez, V., Vibrans, H., & Cibrián-Tovar, D. (2016). Variación Estacional en la Composición Química de Resinas y Aceites Esenciales de *Liquidambar styraciflua* de Hidalgo, México. Botanical Sciences, 94(2), 331-344. <https://doi.org/10.17129/botsci.286>

Red de Herbarios Mexicanos. (2019). *Hesperozygis marifolia* (S.Schauer) Epling. Obtenido de: <https://herbanwmex.net/portal/taxa/index.php?taxon=Hesperozygis+marifolia&ormsubmit=Search+Terms>

- Reséndiz-Melgosa, J., (2023).** Evaluación de dietas artificiales para la cría de Tenebrio molitor (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) bajo condiciones controladas para elaboración de harina rica en proteína [Trabajo de tesis, Universidad Autónoma de Querétaro]. Recuperado de: <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/9895>
- Ribeiro, V., dos Santos, J., Bordignon, S., Apel, M., Henriques, A. & von Poser, G. (2010).** Acaricidal properties of the essential oil from *Hesperozygis ringens* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Bioresource Technology*, 101(7), 2506–2509. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2009.11.016>
- Rodríguez, R. & Herrera, R. (2003).** Insectos y Hongos en los Granos Almacenados en Yucatán. Universidad Autónoma de Yucatán, 227, 44-53.
- SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022).** Maíz, frijol, arroz y trigo, los granos básicos de México. Disponible en: [gob.mx](https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-frijol-arroz-y-trigo-los-granos-basicos-de-mexico). <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-frijol-arroz-y-trigo-los-granos-basicos-de-mexico>
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2016).** Almacenamiento en México. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/185452/revista_271.pdf
- Sayada, N., Tine, S., & Soltani, N. (2022).** Evaluation of a botanical insecticide, lavender (*Lavandula angustifolia* (m.)) essential oil as toxicant, repellent and antifeedant against lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica* (F.)). *Applied Ecology and Environmental Research*, 20(2), 1301–1324. https://doi.org/10.15666/AEER/2002_13011324
- Schoch, C., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J., Sun, L., Turner, S. & Karsch-Mizrachi, I. (2020).** NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020. <https://doi.org/10.1093/DATABASE/BAAA062>
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2013).** Plan Nacional de Eliminación del Consumo de Bromuro de Metilo en México: Informe 2009-2012, Sector Estructuras. Disponible en: <http://apps2.semarnat.gob.mx:8080/sissao/fumigacionestructurasPlan.html>

SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2022). Protocolo de Montreal relativo a las Sustancias que Agotan la Capa de Ozono (Protocolo de Montreal). Disponible en: <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/protocolo-de-montreal-relativo-a-las-sustancias-que-agotan-la-capa-de-ozono-protocolo-de-montreal>

Shadia, E.; Abd, El Aziz. (2011). Estrategias de Control de Plagas de Productos Almacenados. *Revista de Entomología*, 8, 101-122.

Silva, D., Silva, L., Amaral, L., Pinheiro, C., Pires, M., Schindler, B., Garlet, Q., Benovit, S., Baldisserotto, B., Longhi, S., Kotzian, C., & Heinzmann, B. (2014). Larvicidal activity of brazilian plant essential oils against *Coenagrionidae* larvae. *Journal of Economic Entomology*, 107(4), 1713–1720. <https://doi.org/10.1603/EC13361>

Stephane, F. & Jules, B. (2020). Terpenoids as important bioactive constituents of essential oils. En Santana et al *Essential Oils: Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*. 1er ed. IntechOpen. Recuperado de: <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.91426>

Szczepanik, M., Dams, I., & Wawrzeńczyk, C. (2005). Feeding deterrent activity of terpenoid lactones with the p-Menthane system against the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, 34(6), 1433–1440. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-34.6.1433>

Tyagi, S., Guru, P., Nimesh, A., Asrar-Bashir, A., Patgiri, P., Mohod, V., & Khatkar, A. B. (2019). Post-Harvest Stored Product Insects and their Management. Central Institute of Post-Harvest Engineering and Technology, Ludhiana. Disponible en: <https://www.ciphet.in>

Vincent, C., Hallman, G., Panneton, B., & Fleurat-Lessard, F. (2003). Management of agricultural insects with physical control methods. *Annual Review of Entomology*, 48, 261–281. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ENTO.48.091801.112639>

Viñuela, E. Adan, A., Del Estal, P., Marco, V. & Budia, F. (1993). Plagas de los productos almacenados. Ministerio de agricultura pesca y alimentación. Disponible en: https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1993_01.pdf

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/10.1016/J.JSPR.2005.06.001>

Wang, X., Hao, Q., Chen, Y., Jiang, S., Yang, Q., Li, Q. & Kavallieratos, N. (2015). The Effect of chemical composition and bioactivity of several essential oils on *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Insect Science*, 15(1). <https://doi.org/10.1093/JISESA/IEV093>

Wu, Y., Miao, H., Fan, S., Wu, Y., Miao, H., & Fan, S. (2011). Separation of Chiral Pyrethroid Pesticides and Application in Pharmacokinetics Research and Human Exposure Assessment. *Pesticides in the Modern World - Effects of Pesticides Exposure*. <https://doi.org/10.5772/16617>