
Efecto larvicida y adulticida de extractos etanólicos de ayote (*cucurbita argyrosperma*), chipilín (*crotalaria longirostrata*) y chile cobanero (*capsicum annuum*) contra mosquitos *aedes* sp

Carlos Valdez-Sandoval¹

zoovaldez@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-8742-1320>

Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de San Carlos de Guatemala,
Guatemala.

Josué García-Pérez

josgar85@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-6899-8036>

Centro de Estudios del Mar y Acuicultura,
Universidad de San Carlos de Guatemala,
Guatemala.

Dennis Guerra-Centeno

m.sc.dennisguerra@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-3021-4742>

Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de San Carlos de Guatemala,
Guatemala.
Centro Universitario CIFE, Cuernavaca, Mor.,
México

Mercedes Díaz-Rodríguez

diazrodriguezmdc@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-9428-9380>

Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de San Carlos de Guatemala,
Guatemala.

Hugo Pérez-Noriega

hugonoriega2621@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-0274-5471>

Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de San Carlos de Guatemala,
Guatemala.

¹ Autor Principal

RESUMEN

Los mosquitos del género *Aedes* son los principales vectores de importantes enfermedades virales zoonóticas tales como dengue, chikungunya y zika. Controlar las poblaciones y evitar la expansión de estas especies de mosquitos constituye un difícil reto para las instituciones sanitarias a nivel mundial. La resistencia a los insecticidas sintéticos representa un desafío para encontrar alternativas viables para el control y la erradicación de estos vectores. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto larvicida y adulticida de tres extractos etanólicos de plantas nativas de Guatemala contra mosquitos *Aedes*. Los tratamientos fueron: (1) extracto de ayote (*Cucurbita argyrosperma*), (2) extracto de chipilín (*Crotalaria longirostrata*), y (3) extracto de chile cobanero (*Capsicum annuum* var *annuum*). Los bioensayos se realizaron siguiendo la metodología de la Organización Mundial de la Salud y registrando la mortalidad a las 24 horas. Los extractos de las tres plantas mostraron efecto larvicida y adulticida contra los mosquitos *Aedes* en condiciones de laboratorio. El extracto de *Crotalaria longirostrata* exhibió mayor actividad larvicida con la menor concentración letal₅₀ (CL₅₀=775 mg/L), seguido por *Capsicum annuum* (CL₅₀=1330 mg/L) y *Cucurbita argyrosperma* (CL₅₀=1525 mg/L). Los extractos evaluados pueden ser alternativas para el control de mosquitos, siendo productos naturales, amigables con el medio ambiente, y menos perjudiciales para el equilibrio ecológico y la salud humana.

Palabras clave: insecticidas botánicos; control de vectores; dengue; chikungunya; zika

Larvicidal and adulticidal effect of ethanolic extracts of squash (*cucurbita argyrosperma*), chipilín (*crotalaria longirostrata*) and cobanero pepper (*capsicum annuum*) against *Aedes* sp. mosquitoes

ABSTRACT

Mosquitoes of the genus *Aedes* are the main vectors of important zoonotic viral diseases such as dengue, chikungunya and Zika. Controlling the populations and preventing the expansion of these mosquito species is a difficult challenge for health institutions worldwide. Resistance to synthetic insecticides represents a challenge to find viable alternatives for the control and eradication of these vectors. In response to the above described, the objective of the present study was to evaluate the larvicidal and adulticidal effect of three ethanolic extracts of native plants of Guatemala against *Aedes* mosquitoes. The treatments were: (1) ayote extract (*Cucurbita argyrosperma*), (2) chipilín extract (*Crotalaria longirostrata*), and (3) cobanero pepper extract (*Capsicum annuum* var *annuum*). Bioassays were carried out following the methodology of the World Health Organization and recording mortality at 24 hours. The extracts of the three plants showed larvicidal and adulticidal effect against *Aedes* mosquitoes under laboratory conditions. The extract of *Crotalaria longirostrata* exhibited the highest larvicidal activity with the lowest lethal concentration 50 (LC50=775 mg/L), followed by *Capsicum annuum* (LC50=1330 mg/L) and *Cucurbita argyrosperma* (LC50=1525 mg/L). The evaluated extracts can become natural, ecological, and safe alternatives to synthetic mosquito control products.

Keywords: *botanical insecticides; vector control; dengue; chikungunya; zika.*

Artículo recibido 01 abril 2023

Aceptado para publicación: 15 abril 2023

INTRODUCCIÓN

Los mosquitos del género *Aedes* son los principales vectores de importantes zoonosis virales como dengue, chikungunya y zika (Vences-Velázquez et al., 2016). Según la Organización Panamericana de la Salud [OPS] y la Organización Mundial de la Salud [OMS] (2019), en América Latina se registraron durante el año 2019, alrededor de 2.7 millones de casos de dengue incluyendo 1,200 defunciones. En cuanto a chikungunya, se han reportado en 2017 alrededor de 1.5 millones de casos sospechosos, 40 mil casos confirmados y alrededor de 200 defunciones (OMS, 2017a) y respecto al zika se estiman hasta 1.5 millones de casos (World Health Organization [WHO], 2016). Estos valores de morbilidad evidencian la necesidad de aumentar los esfuerzos de control y erradicación de estas enfermedades y de sus vectores.

Algunas de las opciones de uso más frecuente para el control de los mosquitos vectores de diversas enfermedades incluyen productos químicos con efecto larvicida, adulticida y repelente. En los programas nacionales se utilizan regularmente insecticidas sintéticos (piretroides, fosforados y clorados). Sin embargo, se ha detectado resistencia a los compuestos más usados (carbamatos, organoclorados, organofosforados y piretroides) a nivel mundial (Dusfour et al, 2019; Gan et al., 2021; Kandel et al., 2019; Moyes et al., 2017; Seixas et al., 2017; Sene et al., 2021). En respuesta a esta problemática, se ha investigado el uso de productos alternativos, entre los cuales se encuentran productos elaborados a base de extractos vegetales que a través de sus metabolitos naturales son efectivos contra diversos insectos (Singh et al., 2021). Algunos insecticidas botánicos como el nim, la nicotina, el limoneno y la rotenona han mostrado resultados interesantes (Dougoud et al., 2019; Hikal et al., 2017; Isman, 2020; Pavela, 2016; Velasques et al., 2017).

Guatemala es un país megadiverso (Bacon et al., 2019) en el que se distribuyen más de 10,000 especies de plantas (Véliz, 2016). A pesar de esta gran diversidad son pocos los estudios que han explorado la actividad insecticida de plantas nativas contra mosquitos del género *Aedes*. Se han reportado efectos positivos de plantas como *Lippia alba* y *L. graveolens* (Aldana & Cruz, 2017). Sin embargo, todavía quedan muchas especies nativas por evaluar por lo que el objetivo del presente estudio fue investigar el efecto larvicida y adulticida de extractos alcohólicos de ayote (*Cucurbita argyrosperma*), chipilín

(*Crotalaria longirostrata*), y chile cobanero (*Capsicum annuum* var *annuum*) contra los mosquitos de género *Aedes*.

METODOLOGÍA

Área de estudio

La elaboración de los extractos vegetales se realizó en el Laboratorio de Sanidad Acuícola del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura de la Universidad de San Carlos de Guatemala. El bioensayo de evaluación de efecto larvicida y adulticida se realizó en las instalaciones del Instituto de Investigación en Ciencia Animal y Ecosalud de la Facultad de Medicina Veterinaria de la misma Universidad en la Ciudad de Guatemala.

Material vegetal

Se obtuvo material de tres especies de plantas nativas de Guatemala: semillas de ayote (*Cucurbita argyrosperma*), semillas de chipilín (*Crotalaria longirostrata*) y frutos de chile cobanero (*Capsicum annuum* var *annuum*). Las semillas de ayote y de chipilín provinieron del Instituto Mesoamericano de Permacultura, en San Lucas Tolimán, Sololá, Guatemala. Los frutos de chile cobanero provinieron del mercado municipal de Jalapa, Guatemala.

Previo a la preparación de los extractos, los materiales vegetales fueron secados en horno de corriente forzada a 45 °C durante 48 h. Posteriormente, el material vegetal fue triturado en un molinillo eléctrico hasta alcanzar un tamaño de partícula <1,000 µm. El material seco fue guardado en bolsas con cierre hermético a temperatura ambiente hasta su uso.

Preparación de los extractos vegetales

Los extractos se obtuvieron a través de la técnica de percolación descrita por Rodino & Butu, (2019). Para el efecto se pesaron 400 g de cada material vegetal seco. El material se sumergió en etanol al 95%, a una relación de 1:5 (v/v) durante 72 horas. Cumplido este tiempo la solución fue filtrada en papel filtro Whatman No. 1 para remover los residuos vegetales. Los recipientes con el material fueron colocados en una campana de extracción por 24 h. Una vez que el etanol se volatilizó por completo, se recuperó el extracto etanólico de cada planta. El rendimiento de los extractos vegetales por cada planta se estimó a partir de la siguiente fórmula: $Y (\%) = M/MV \times 100$, donde M es la masa de cada extracto vegetal

obtenida y MV es la cantidad del material vegetal seco utilizado. Los rendimientos de los extractos fueron: *Cucurbita argyrosperma* (5%), *Crotalaria longirostrata* (1.5%) y *Capsicum annuum* (35%).

Los extractos se mantuvieron a 4°C en frascos de color ambar. A continuación, se diluyó el extracto de cada material vegetal en polisorbato 20 (0.5%) para producir una solución madre con una concentración final de 50,000 mg/L. La solución madre se diluyó en agua desmineralizada para obtener las concentraciones finales de 100, 500, 1,000, 2,000 y 3,000 mg/L.

Obtención de las larvas de *Aedes* sp.

Aprovechando que Guatemala es un país subtropical, donde los mosquitos del género *Aedes* (principalmente *A. aegypti* y *A. albopictus*) son ubicuos (Lepe-López et al., 2017), las larvas fueron colectadas colocando recipientes con agua y material orgánico en el ambiente del área de estudio durante la temporada de lluvias. Para el efecto, a inicios del mes de mayo, se colocaron al exterior 20 recipientes plásticos cilíndricos (4 L), que se dejaron bajo la lluvia hasta que estos contuviesen agua de lluvia entre el 50% y 80% de su capacidad. Una vez alcanzado el nivel de agua, los recipientes fueron puestos a resguardo de la lluvia. A cada recipiente se le agregó 400 g de tierra negra que sirvió como sustrato alimenticio para las larvas.

De junio a noviembre se realizaron inspecciones diarias de los recipientes y se colectaron las larvas de estadio 2 y 3 presentes en los recipientes. Las larvas fueron colectadas por succión, usando una pipeta de transferencia con bulbo de goma con capacidad de 10 ml (Eisco®, Ambala, India). Las larvas colectadas fueron identificadas taxonómicamente partiendo de estructuras morfológicas, siguiendo la clave pictórica de Rueda (2004). Las larvas del género *Aedes* fueron seleccionadas y utilizadas para los bioensayos que se realizaron a medida que estas iban siendo colectadas.

Bioensayos

Los bioensayos para evaluar el efecto larvicida y adulticida siguieron la metodología recomendada por la OMS (2017b). En el caso del bioensayo del efecto larvicida se utilizó un control (0 mg/L) y cinco concentraciones (100, 500, 1,000, 2,000 y 3,000 mg/L). Para evaluar cada concentración se utilizaron 30 larvas distribuidas en tres repeticiones de 10 larvas cada una, para un total de 180 larvas por extracto. La mortalidad de las larvas se registró a las 24 horas. A partir del bioensayo con larvas, se determinó la concentración letal 50 (CL₅₀) de cada extracto vegetal.

Para el bioensayo del efecto adulticida se evaluó únicamente la CL₅₀ previamente calculada para cada extracto etanólico (*Cucurbita argyrosperma* = 1,525 mg/L, *Capsicum annuum* =1,330 mg/L y *Crotalaria longirostrata* =775 mg/L). Para evaluar cada una de estas concentraciones se utilizaron 24 individuos distribuidos en tres repeticiones de ocho mosquitos adultos cada una (más 24 del control) y se registró la mortalidad a las 24 horas.

Análisis de datos

Para determinar la concentración letal 50 (CL₅₀) a la cual se observa efecto larvicida se utilizó un modelo de regresión logística. Para detectar diferencias en el efecto de las concentraciones de cada extracto sobre la mortalidad de las larvas se utilizaron análisis de Kruskal Wallis. Para comparar las mortalidades entre las dosis de cada extracto se utilizaron pruebas no planeadas de Dunn. Para describir el efecto adulticida de los extractos etanólicos a sus (CL₅₀) se utilizó estadística descriptiva. Las regresiones logísticas se realizaron mediante R Studio Versión 1.2.5001 (R Core Team, 2020). Los análisis de Kruskal Wallis y las pruebas no planeadas de Dunn se realizaron mediante Jasp® versión 0.17.1 (JASP Team, 2023).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos etanólicos de *Cucurbita argyrosperma*, *Crotalaria longirostrata* y *Capsicum annuum* mostraron efectos larvicidas contra las larvas de mosquito del género *Aedes*. En la tabla 1, se muestra el porcentaje de mortalidad de las larvas al someterlas a cinco concentraciones de cada extracto de planta.

Tabla 1. Mortalidad media de cinco concentraciones de tres extractos etanólicos vegetales contra larvas de *Aedes* sp.

Material Vegetal	Porcentaje de mortalidad de larvas según la concentración del extracto					
	0 mg/L	100 mg/L	500 mg/L	1,000 mg/L	2,000 mg/L	3,000 mg/L
<i>Cucurbita argyrosperma</i>	0	3.3	10	23.3	56.7	90
<i>Crotalaria longirostrata</i>	0	3.3	30	56.7	96.7	100
<i>Capsicum annuum</i>	0	0.0	10	30	66.7	96.7

Se detectó efecto de la concentración sobre la mortalidad de larvas para los extractos de *Cucurbita argyrosperma* (H = 14.93, p = 0.01), *Crotalaria longirostrata* (H = 16.33, p = 0.006) y *Capsicum annuum* (H = 15.5, p = 0.008). En la tabla 2, se muestran las comparaciones no planeadas de Dunn entre los tratamientos de los tres extractos vegetales.

Tabla 2. Comparaciones no planeadas de Dunn entre los efectos larvicidas de las concentraciones de los extractos de *Cucurbita argyrosperma*, *Crotalaria longirostrata* y *Capsicum annuum* sobre larvas de *Aedes sp.*

Comparación	<i>Cucurbita argyrosperma</i> P	<i>Crotalaria longirostrata</i> p	<i>Capsicum annuum</i> p
100 mg - 1000 mg	0.211	0.109	0.097
100 mg - 2000 mg	0.035*	0.010**	0.014*
100 mg - 3000 mg	0.006**	0.005**	0.003**
100 mg - 500 mg	0.584	0.329	0.429
100 mg - Control	0.725	0.815	1.000
1000 mg - 2000 mg	0.390	0.329	0.429
1000 mg - 3000 mg	0.127	0.226	0.205
1000 mg - 500 mg	0.482	0.532	0.384
1000 mg - Control	0.109	0.066	0.097
2000 mg - 3000 mg	0.506	0.815	0.635
2000 mg - 500 mg	0.118	0.109	0.097
2000 mg - Control	0.014*	0.005**	0.014*
3000 mg - 500 mg	0.026*	0.066	0.033*
3000 mg - Control	0.002**	0.002**	0.003**

* p < 0.05, **p < 0.01

En cuanto a la LC₅₀, *C. longirostrata* fue la especie que presentó mayor actividad larvicida con la menor concentración del extracto etanólico (CL50=775 mg/L), seguida por *Capsicum annuum* (CL50=1,330 mg/L) y *Cucurbita argyrosperma* (CL50=1,525 mg/L).

Por otro lado, los tres extractos botánicos evaluados (a la LC₅₀ determinada para las larvas) mostraron también efecto adulticida. El extracto etanólico de *Crotalaria longirostrata* presentó mayor actividad adulticida (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto adulticida de los extractos etanólicos de ayote, chipilín y chile cobanero en mosquitos *Aedes sp*, utilizando la CL50 determinada para las larvas.

Material	Concentración (mg/L) del extracto	Mortalidad de mosquitos <i>Aedes</i>
<i>Cucurbita argyrosperma</i>	1,525	62.7%
<i>Crotalaria longirostrata</i>	775	67.5%
<i>Capsicum annuum</i>	1,330	56.1%

Los datos sobre el efecto larvicida y adulticida contra mosquitos *Aedes* generados en la presente investigación generan un interés práctico. Esto, debido a que los extractos fueron producidos a partir de plantas nativas que se encuentran ampliamente disponibles en el agropaisaje de Guatemala, tanto de forma silvestre como en cultivos de traspatio (Álvarez, 2020). La aplicación práctica de estos extractos constituye una alternativa para el control de mosquitos y probablemente de otros grupos de insectos, utilizando productos naturales y amigables con el medio ambiente, mejorando así las condiciones de vida de las personas.

A nuestro entender, las publicaciones sobre el efecto larvicida de extractos de semillas de *Cucurbita argyrosperma*, *Crotalaria longirostrata* y frutos de *Capsicum annuum* var *annuum* son prácticamente inexistentes. Esto se explica porque son especies de uso cultural local en Guatemala y porque han recibido poco interés como potenciales bioinsecticidas.

Se han descrito efectos larvicidas de extractos de otras cucurbitáceas como *Cucurbita anguria* que mostró efectividad contra larvas de *Aedes sp*. a una concentración de 500 mg/L (Grubben & Denton, 2004) y *Citrullus colocynthis* que mostró actividad prometedora para inhibir la eclosión de adultos de mosquitos vectores, incluyendo *Aedes aegypti* (Arivoli & Tennyson, 2011).

También se ha detectado efecto larvicida de extractos de hojas de *Crotalaria palida* contra mosquitos *Aedes aegypti*, con una CL50 de 360 mg/L (Takagi et al., 2020), siendo esta menor que la observada (774 mg/L) para el extracto de semilla de *C. logirostrata* en el presente estudio. En otro estudio se determinó actividad insecticida de *C. juncea* contra *Drosophila melanogaster* (Peñaloza & Peláez, 2008). Esta actividad fue atribuida al alcaloide pirrolizidínico usaramina, que ha sido encontrado en varias especies del género *Crotalaria* (Asres et al., 2004; Silva et al., 2009).

Por otro lado, Antonious y colaboradores (2007) reportaron efecto larvicida al asperjar extractos de

Capsicum annuum a larvas del gusano falso medidor (*Trichoplusia ni*) y concluyeron que los efectos larvicidas podrían estar relacionados al metil ester del ácido pentadecanoico. Castillo-Sánchez y colaboradores (2010) revisaron las publicaciones sobre efectos insecticidas de varias especies de chiles y reportaron efectividad para los extractos de frutos de *C. annuum*, *C. baccatum* y *C. frutescens*. A diferencia de lo reportado por Antonious y colaboradores (2007), estos efectos fueron atribuidos a la presencia de capsaicinoides como la capsaicina, que es un compuesto común en frutos de chiles (Lu et al., 2020; Xiang et al., 2021).

El dato publicado sobre CL50 más comparable con nuestro estudio para el caso del chile cobanero es el de Rosado-Solano y colaboradores (2018) quienes reportaron actividad larvicida de extractos de *Capsicum chinense* contra larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*, con una CL50 de 1,056 mg/L, versus 1330 mg/L para chile cobanero contra larvas de *Aedes* sp.

Aunque los tres extractos de las tres especies evaluadas en el presente estudio fueron efectivos, las CL50 fueron mayores que las de extractos de otras especies vegetales que han mostrado mayor potencial como insecticidas botánicos. Por ejemplo, el extracto de chipilín, que fue la que presentó mayor actividad larvicida en el presente estudio (CL50 =775 mg/L), tendría que aplicarse en una concentración diez veces mayor que la mostrada por plantas como *Cymbopogon nardus*, *C. martinni*, *Eucalyptus globulus*, *Lippia alba*, *L. origanoides*, *Pelargonium graveolens*, *Salvia officinalis*, *Swinglea glutinosa*, *Thymus vulgaris* y *Turnera diffusa* cuya CL50 oscila entre 45 a 115 mg/L (Frota et al., 2021; Ríos et al., 2017). A pesar de todo la adaptación y resistencia natural de las plantas evaluadas en el presente estudio podría hacer que valga la pena el intentar su aplicación a nivel de campo.

En los últimos años, ha existido un creciente interés académico por la prospección de insecticidas botánicos que puedan emplearse en diversos ámbitos prácticos (Isman, 2017; Pavela, 2016). Sin embargo, los esfuerzos de aplicación práctica de los hallazgos científicos se han concentrado principalmente en dos especies, el crisantemo y en el nim (Isman, 2020). Es necesario, por lo tanto, en un futuro cercano, reducir los esfuerzos de búsqueda básica y aumentar los esfuerzos de aplicación práctica de los hallazgos, principalmente en países en vías de desarrollo donde la agricultura de subsistencia y la agricultura minifundista son socialmente las más importantes.

Por otro lado, hay cierta evidencia acumulada sobre la efectividad de la aplicación práctica de

insecticidas botánicos artesanales por parte de pequeños agricultores (Dougoud et al., 2019). Al relacionar este conocimiento con los hallazgos del presente estudio se refuerza la idea de que el campesino tiene posibilidad de fabricar artesanalmente insecticidas botánicos que pueda utilizar para controlar las poblaciones de mosquitos transmisores de enfermedades, así como de otros insectos causantes de enfermedades de cultivos vegetales y animales. Como se dijo al inicio de esta discusión, las plantas evaluadas en la presente investigación son plantas ubicuas en Guatemala, adaptadas al ambiente y de importancia cultural por lo que su aplicación potencial no encontraría mayor resistencia por las comunidades rurales.

Finalmente, es necesario continuar con la investigación antes de recomendar los extractos de las plantas evaluadas de forma masiva o a nivel de campo. Esto derivado a que el presente estudio se realizó en condiciones de laboratorio y aún falta profundizar en aspectos como: otras partes de la planta, otros tipos de extractos, formas de uso y almacenamiento, análisis de componentes químicos, análisis de costo beneficio, de inocuidad y otros aspectos (Frota et al., 2021).

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de *Cucurbita argyrosperma*, *Crotalaria longirostrata* y *Capsicum annuum* var *annuum* evaluados en el presente estudio fueron efectivos, aunque las CL50 son mayores a las de otras especies vegetales más eficientes como insecticidas botánicos.

El extracto etanólico de *Crotalaria longirostrata* presentó la mayor actividad larvicida y adulticida con la menor concentración por lo que después de los análisis correspondientes podría constituir una alternativa viable para el control de mosquitos de importancia en salud pública.

Es importante, sin embargo, verificar la inocuidad de los extractos evaluados y validar la efectividad y aplicación práctica en condiciones de campo y eso incluye la capacitación de los campesinos, sobre todo, de las comunidades mayas de Guatemala que son las que utilizan esas especies con fines culturales y culinarios en su vida cotidiana.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue cofinanciada por la Dirección General de Investigación, Programa Universitario de Investigación en Desarrollo Industrial, Universidad de San Carlos de Guatemala (Digi-Usac, 2021) número de proyecto: DES2-2021

LISTA DE REFERENCIAS

- Aldana, F., & Cruz, S. (2017). Actividad larvicida de aceites esenciales de *Lippia alba* y *Lippia graveolens*, contra *Aedes aegypti* L. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 26(2), 36-48.
- Álvarez, H. A. (2020). *Contribución de plantas nativas a la seguridad alimentaria en comunidades Mayas de Guatemala*. Nota técnica 1824. Banco Interamericano de Desarrollo.
- Antonious, G. F., Meyer, J. E., Rogers, J. A., & Hu, Y. H. (2007). Growing hot pepper for cabbage looper, *Trichopulsia ni* (Hübner) and spider mite, *Tetranychus urticae* (Koch) control. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 42(5), 559-567. <https://doi.org/10.1080/03601230701389512>
- Arivoli, S., & Samuel, T. (2011). Bioefficacy of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad (Cucurbitaceae) whole plant extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Current Research*, 3(4), 296-304.
- Asres, K., Sporer, F., & Wink, M. (2004). Patterns of pyrrolizidine alkaloids in 12 Ethiopian *Crotalaria* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32(10), 915-930. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2004.03.004>
- Bacon, E., Gannon, P., Stephen, S., Seyoum-Edjigu, E., Schmidt, M., Lang, B., Sandwith, T., Xin, J., Arora, S., Adham, K. N., Espinoza, A. J. R., Qwathkana, M., Prates, A. P. L., Shestakov, A., Cooper, D., Ervin, J., Dias, B. F. de S., Leles, B., Attallah, M., & Gidda, S. B. (2019). Aichi Biodiversity Target 11 in the like-minded megadiverse countries. *Journal for Nature Conservation*, 51, 125723. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2019.125723>
- Castillo-Sánchez, L. E., Jiménez-Osornio, J. J., & Delgado-Herrera, M. A. (2010). Secondary metabolites of the Annonaceae, Solanaceae and Meliaceae families used as biological control of insects. Tropical and subtropical *Agroecosystems*, 12(3), 445-462.
- Dougoud, J., Toepfer, S., Bateman, M., & Jenner, W. H. (2019). Efficacy of homemade botanical insecticides based on traditional knowledge. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 39, 1-22. <https://doi.org/10.1007/s13593-019-0583-1>

- Dusfour, I., Vontas, J., David, J. P., Weetman, D., Fonseca, D. M., Corbel, V., Raghavendra, K., Coulibaly, M. B., Martins, A. J., Kasai, S., & Chandre, F. (2019). Management of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses: Advances and challenges. *PLoS neglected tropical diseases*, *13*(10), e0007615. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007615>
- Frota, L. C., Feitosa, L. M., Santos, G. S., Alves, N. B., Santos, M., Sousa, J. F., Barros, V.C. & Sanches, M. C. (2021). Analysis of the chemical composition, antifungal activity and larvicidal action against *Aedes aegypti* larvae of the Essential Oil *Cymbopogon nardus*. *Research, Society and Development*, *10*(13). <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21452>
- Gan, S. J., Leong, Y. Q., bin Barhanuddin, M. F. H., Wong, S. T., Wong, S. F., Mak, J. W., & Ahmad, R. B. (2021). Dengue fever and insecticide resistance in *Aedes* mosquitoes in Southeast Asia: a review. *Parasites & vectors*, *14*(1), 1-19. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04785-4>
- Grubben, G. J. H., & Denton, O. A. (2004). *Plant resources of tropical Africa 2: Vegetables*. PROTA Fondation / Backhuys Publishers.
- Hikal, W. M., Baeshen, R. S., & Said-Al Ahl, H. A. (2017). Botanical insecticide as simple extractives for pest control. *Cogent Biology*, *3*(1), 1404274. <https://doi.org/10.1080/23312025.2017.1404274>
- Isman, M. B. (2017). Bridging the gap: Moving botanical insecticides from the laboratory to the farm. *Industrial crops and products*, *110*, 10-14. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.012>
- Isman, M. B. (2020). Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise?. *Annual Review of Entomology*, *65*, 233-249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010>
- JASP Team. (2023). Jasp Version 0.17. <https://jasp-stats.org/>
- Kandel, Y., Vulcan, J., Rodriguez, S. D., Moore, E., Chung, H. N., Mitra, S., Cordova, J. J., Martínez, K. J., Moon, A. S., Kulkarni, A., Etestad, P., Melman, S., Xu, J., & Hansen, I. A. (2019). Widespread insecticide resistance in *Aedes aegypti* L. from New Mexico, USA. *PLoS one*, *14*(2), e0212693. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212693>

- Lepe-López, M. A. L., Dávila, M., Canet, M., Lopez, Y., Flores, E., Dávila, A., & Escobar, L. E. (2017). Distribución de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en Guatemala 2016. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 4(1), 21-31. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v4i1.239>
- Lu, M., Chen, C., Lan, Y., Xiao, J., Li, R., Huang, J., Cao, Y., & Ho, C. T. (2020). Capsaicin—the major bioactive ingredient of chili peppers: Bio-efficacy and delivery systems. *Food & function*, 11(4), 2848-2860. <https://doi.org/10.1039/D0FO00351D>
- Moyes, C. L., Vontas, J., Martins, A. J., Ng, L. C., Koou, S. Y., Dusfour, I., Raghavendra, K., Pinto, J., Corbel, V., David, J., & Weetman, D. (2017). Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(7), e0005625. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005625>
- Organización Mundial de la Salud. (2017a). *Chikungunya*. Ginebra: OMS.
- Organización Mundial de la Salud. (2017b). *Procedimientos de las pruebas para la vigilancia de la resistencia a los insecticidas en los mosquitos vectores del paludismo*. Ginebra: OMS.
- Organización Panamericana de la Salud & Organización Mundial de la Salud. (2019). *Actualización epidemiológica dengue*. Washington, D.C.: OPS/OMS.
- Pavela, R. (2016). History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects—a review. *Plant Protection Science*, 52(4), 229-241. <https://doi.org/10.17221/31/2016-PPS>
- Peñaloza, G. C., & Peláez, C. A. (2008). Evaluación de la actividad biológica de extractos de *Crotalaria juncea* mediante el modelo *Drosophila melanogaster*. *Vitae*, 15(2), 279-284.
- R Core Team. (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ríos, N., Stashenko, E., & Duque, J. E. (2017). Evaluation of the insecticidal activity of essential oils and their mixtures against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 61, 307-311. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.08.005>
- Rodino, S., & Butu, M. (2019). Herbal extracts—new trends in functional and medicinal beverages. En A., Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Functional and medicinal beverages* (73-108). Academic Press.

- Rosado-Solano, D. N., Restrepo-Manrique, R., Jaramillo-Pérez, V. M., Puerto-Galvis, C. E., Kouznetsov, V. V., & Vargas-Méndez, L. Y. (2018). Actividad larvicida de aceites esenciales y extractos de plantas colombianas frente a *Culex quinquefasciatus* (Díptera: Culicidae). *Iteckne*, *15*(2), 79-87. <https://doi.org/10.15332/iteckne.v15i2.2069>
- Rueda, L. M. (2004). *Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with dengue virus transmission*. Walter Reed Army Institute of Research Washington Dc Department Of Entomology.
- Seixas, G., Grigoraki, L., Weetman, D., Vicente, J. L., Silva, A. C., Pinto, J., Vontas, J., & Sousa, C. A. (2017). Insecticide resistance is mediated by multiple mechanisms in recently introduced *Aedes aegypti* from Madeira Island (Portugal). *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *11*(7), e0005799. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005799>
- Sene, N. M., Mavridis, K., Ndiaye, E. H., Diagne, C. T., Gaye, A., Ngom, E. H. M., Ba, Y., Diallo, D., Vontas J., Dia, I., & Diallo, M. (2021). Insecticide resistance status and mechanisms in *Aedes aegypti* populations from Senegal. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *15*(5), e0009393. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009393>
- Silva, A., Goulart, A. M., & Trigo, J. R. (2009). Pyrrolizidine alkaloid profiles in *Crotalaria* species from Brazil: Chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*, *37*(4), 459-469. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.06.001>
- Singh, K. D., Mobolade, A. J., Bharali, R., Sahoo, D., & Rajashekar, Y. (2021). Main plant volatiles as stored grain pest management approach: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, *4*, 100127. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100127>
- Takagi, B. A., de Souza, T. G. B., de Oliveira, M. D., Bernardes, L. G., Oda, J. Y., Machado, A. R. D. S. R., & Machado, A. M. (2020). Efeito larvicida e ovocida de extratos de *Crotalaria pallida* sobre o vetor *Aedes aegypti*. *Brazilian Journal of Development*, *6*(5), 23060-23074. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-019>
- Velasques, J., Cardoso, M. H., Abrantes, G., Frihling, B. E., Franco, O. L., & Migliolo, L. (2017). The rescue of botanical insecticides: A bioinspiration for new niches and needs. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *143*, 14-25. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.10.003>

- Véliz, M. E. (2016). Diversidad florística de Guatemala. En C. Azurdía, M. A. García & M. M. Ríos (Eds.). *Guatemala y su biodiversidad: un enfoque histórico, cultural, biológico y económico*. (pp. 261-299). Consejo Nacional de Áreas Protegidas. https://sip.conap.gob.gt/wp-content/uploads/2021/05/Libro-Guatemala-y-su-Biodiversidad_2008.pdf
- Vences-Velázquez, G., Abarca-Vargas, F. E., Lara-Nava, M. A., Rodríguez-Bataz, E., Andraca-Sánchez, C., & Sánchez-Arriaga, J. (2016). Distribución geográfica de larvas de *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) y riesgo de transmisión de dengue, chikungunya y zika en Tecoaapa, Guerrero. *Revista de Entomología Mexicana*(3), 722-728.
- World Health Organization. (2016). *Zika strategic response framework & joint operations plan*. Geneva: WHO Press.
- Xiang, Q., Guo, W., Tang, X., Cui, S., Zhang, F., Liu, X., ... & Chen, W. (2021). Capsaicin—the spicy ingredient of chili peppers: A review of the gastrointestinal effects and mechanisms. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 755-765. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.034>