

**Extractos de neem (*Azadirachta indica*) y supervivencia de larvas de *Spodoptera frugiperda*****(J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Original)****Neem extracts (*Azadirachta indica*) and *Spodoptera frugiperda* larvae survival (J.E. Smith)****(Lepidoptera: Noctuidae) (Original)**

Ramiro Remigio Gaibor Fernández. Ingeniero Agrónomo. Máster en Agroecología y Agricultura Sostenibles. Profesor Agregado 1. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador.

[rgaibor@uteq.edu.ec](mailto:rgaibor@uteq.edu.ec) 

Gema Monserrate Espinoza Zambrano. Ingeniera Agrónoma. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. [espinozamgema@hotmail.com](mailto:espinozamgema@hotmail.com) 

Sergio Florentino Rodríguez Rodríguez. Ingeniero Agrónomo. Doctor en Ciencias Agrícolas. Profesor Titular. Universidad de Granma. Bayamo. Granma. Cuba.

[sfrodriguez1964@gmail.com](mailto:sfrodriguez1964@gmail.com) 

Juan José Reyes Pérez. Ingeniero Agrónomo. Doctor en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales con Orientación en Agricultura Sostenible. Profesor Titular. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. [jreyes@uteq.edu.ec](mailto:jreyes@uteq.edu.ec) 

Recibido: 17-07-2022/ Aceptado: 28-09-2022

**Resumen**

*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) es la plaga del maíz que más daño causa a las producciones agrícolas, fundamentalmente en su estado larval, la cual se encuentra ampliamente diseminada por varias regiones geográficas del mundo, y en este sentido es creciente la búsqueda de alternativas ecológicas para disminuir sus daños. Esta investigación tuvo como finalidad evaluar el efecto insecticida de tres dosis de extractos foliares de neem (9,4;

7,5 y 5,6 cc) con un control de agua destilada, en la supervivencia de larvas de *Spodoptera frugiperda*. Se contabilizó la cantidad de larvas muertas desde las 48 hasta las 192 horas. Se evaluó la supervivencia por Kaplan-Meier y sus estadísticos asociados. Los resultados arrojaron que la mayor dosis del extracto del neem aplicado alcanzó los menores porcentajes de supervivencia y los mayores de mortalidad al final del ciclo. Entre las funciones de probabilidad de supervivencia de los cuatro tratamientos se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para la prueba del logaritmo del rango de Mantel y Cox. Se concluye que los extractos del neem tienen efecto insecticida sobre las larvas de la plaga en el tiempo, por lo que es una alternativa amigable con el ambiente por tratarse de insecticidas biológicos naturales, sin efecto residual y no contaminante.

**Palabras clave:** plaga; *Spodoptera frugiperda*; maíz; neem

#### **Abstract**

*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) is the corn pest that causes the most damage to agricultural production, mainly in its larval stage, which is widely disseminated throughout various geographical world regions, and in this sense the search for ecological alternatives is growing to reduce its damage. The purpose of this research was to evaluate the insecticidal effect of three doses of neem foliar extracts (9.4; 7.5 and 5.6 cc) with a control of distilled water, on the survival of *Spodoptera frugiperda* larvae. The number of dead larvae was counted from 48 to 192 hours. Survival was evaluated by Kaplan-Meier and its associated statistics. The results showed that the highest dose of neem extract applied reached the lowest percentages of survival and the highest mortality at the end of the cycle. Among the survival probability functions of the four treatments, significant differences were found ( $p < 0.05$ ) for the Mantel and Cox log-rank test. It is concluded that neem extracts have an insecticidal effect on

pest larvae over time, making it an environmentally friendly alternative because they are natural biological insecticides, without residual effect and non-polluting.

**Keywords:** pest; *Spodoptera frugiperda*; corn; neem

## **Introducción**

*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) es considerada la plaga más importante en el cultivo del maíz (*Zea mays*) por los daños al cultivo que causa. Aunque es originaria de las Américas, se encuentra ampliamente diseminada por las regiones tropicales y subtropicales. El mayor daño que provoca este insecto es su estado larval y puede sobrevivir en alrededor de 350 especies de plantas (Balasubramani et al., 2022).

Esta plaga, principalmente en su estado larval, si no es controlada adecuadamente puede causar cuantiosas pérdidas económicas por disminución de los rendimientos agrícolas en más de una docena de cultivos de importancia económica a nivel mundial (Centre of Agriculture and Bioscience International, 2020). Por lo que el empleo de alternativas sustentables para su manejo y la ampliación de investigaciones se acrecienta en la actualidad.

Es creciente el empleo de sustancias activas a través de biopreparados para la mejora de las producciones agrícolas y de efectos no agresivos al medio ambiente, donde predominan los bioestimulantes (Moreno & González, 2019; Chávez et al., 2021; Gómez et al., 2021). Dentro de estos bioproductos el uso de extractos vegetales de varias especies de plantas con propiedades insecticidas está entre las alternativas para el manejo de plagas. Una de estas plantas es el árbol del neem *Azadirachta indica* (A. Juss) (Meliaceae: Sapindales), por su efecto insecticida en el control de plagas, donde se incluye *Spodoptera frugiperda*. La finalidad de esta investigación fue evaluar el efecto insecticida de extractos de neem en la supervivencia de larvas de *Spodoptera frugiperda*, en Mocache, Los Ríos, Ecuador.

## **Materiales y métodos**

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Campus Manuel Haz ubicado en la Avenida Quito Km 1 ½ vía Santo Domingo de los Tsáchilas, entre las coordenadas 1°00'45.3" S y 79°28'08.9" W.

Se aplicó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Los tratamientos consistieron en la aplicación de los bioinsecticidas. Con la combinación de los bioinsecticidas y las dosis recomendadas se estableció los tratamientos que se detallan a continuación:

Tratamiento 1 (T<sub>1</sub>). Neem a 9,4 cc.

Tratamiento 2 (T<sub>2</sub>). Neem a 7,5 cc.

Tratamiento 3 (T<sub>3</sub>). Neem a 5,6 cc.

Tratamiento 4 (T<sub>4</sub>). Agua destilada a 250 cc.

Tratamiento 1 (T<sub>1</sub>): Consistió en la aplicación del bioinsecticida de neem a base de hojas de *Azadirachta indica*, en dosis de 9.4 cc. Hojas de plantas de maíz de 15 días de edad fueron tratadas por el método de sumersión en las soluciones de bioinsecticidas. Las hojas de maíz tratadas fueron ofrecidas a larvas como alimento. Se utilizaron 30 larvas de *S. frugiperda*.

Tratamiento 2 (T<sub>2</sub>): Consistió en la aplicación del bioinsecticida elaborado con hojas de *A. indica*, en dosis de 7.5 cc. Se siguió la metodología descrita en el tratamiento uno para tratar el alimento ofrecido a las larvas de *S. frugiperda*.

Tratamiento 3 (T<sub>3</sub>): Consistió en la aplicación del bioinsecticida elaborado con hojas de *A. indica* en dosis de 5.6 cc. Se utilizó la metodología descrita en el tratamiento uno para tratar el alimento ofrecido a las larvas de *S. frugiperda*.

Tratamiento 4 (T<sub>4</sub>): Para el tratamiento control se utilizó 250 cc de agua destilada, se sumergieron pedazos de hojas de maíz y se ofrecieron como alimento a 30 larvas de *S. frugiperda*.

Cría de *Spodoptera frugiperda* bajo condiciones de laboratorio: Para el establecimiento de la cría de *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio se realizaron las siguientes labores, de acuerdo a la investigación de Cerna et al. (2021).

Colecta de larvas: la colecta de larvas fue realizada en parcelas de maíz de la finca experimental “La María”. Para lo cual se sembraron parcelas de maíz (200 m<sup>2</sup>) libre de insecticidas para que sea infestado por *S. frugiperda*. Una vez que se observó presencia de larvas en las plantas se procedió a su colecta, para esta actividad se utilizó micro jaulas (envases plásticos de 7 cm de altura x 7 cm de ancho), cada larva colectada fue colocaba de forma independiente en los envases plásticos para evitar el canibalismo.

Adaptación de larvas en condiciones controladas: una vez colectadas, las larvas de *S. frugiperda* fueron trasladadas al laboratorio. Las larvas se colocaron de forma individual en recipientes plásticos medianos (300 cc). En el fondo del recipiente se colocó papel toalla y una torunda de algodón húmedo. El grupo de larvas fueron alimentadas con hojas de maíz previamente saneadas y libres de residuos de insecticidas. La temperatura promedio en el cual se llevó el experimento fue de 24 °C ± 1 °C, con humedad relativa del 60 %.

Obtención de pupas en condiciones controladas: una vez que las larvas pasaron por todos los estadios larvales, los ejemplares colectados pasaron al estado de pupa, momento en el cual se procedió al sexado de los individuos cuya actividad permitió identificar el sexo de las mismas para separar en 15 parejas (50:50) por cada cámara de empupamiento.

Las pupas fueron colocadas en jaulas confeccionadas con tubos de PVC (10 cm de diámetro x 21 cm de altura), cerradas en un extremo por una tarrina, y en el extremo superior con un fragmento de tela organza, para facilitar el intercambio de aire. Los tubos fueron revestidos en su interior con papel despacho con la finalidad de que cuando las hembras se conviertan en adultas ovipositaran sobre el papel y facilitar la retirada de posturas.

Obtención de adultos en condiciones controladas: las pupas al cabo de 10-12 días se convirtieron en adultos, los cuales fueron alimentados con una solución de miel de abejas al 10 %. El alimento se cambió cada dos días para evitar la fermentación. Las jaulas de tubo PVC se revisaron diariamente y se retiraron las posturas (huevos) colocadas por las hembras adultas. Las posturas fueron separadas en micro jaulas hasta alcanzar la eclosión.

Cría de nueva generación de individuos de *S. frugiperda*: una vez que los huevos eclosionaron y se transformaron en larvas, estas fueron alimentadas con dieta artificial. Las larvas neonatas fueron colocadas de forma individual, proporcionándole 2 g de la dieta, hasta alcanzar el tercer estadio larval.

Preparación de la dieta artificial para la cría de *S. frugiperda*: para la preparación de la dieta se utilizaron los siguientes ingredientes:

- Harina de soya 100 g.
- Levadura de cerveza 30 g.
- Ácido ascórbico 3 g.
- Ácido sórbico 1 g.
- Gelatina sin sabor 30 g.
- Metil- P – hidroxibenzoato 2 g disuelto 5 ml de alcohol puro.
- Agua 300 ml.

Se aplicó el siguiente procedimiento:

- Se disolvió 100 g de la harina de soya en 150 ml de agua batiendo constantemente hasta que no queden grumos.
- Para preparar la gelatina se utilizó 75 ml de agua caliente y 30 g de polvo de gelatina, se mezcló hasta que no queden gránulos, se agregó 75 ml de agua a temperatura ambiente.
- Se juntaron las dos preparaciones anteriores en un recipiente de plástico y posteriormente se añadieron los demás ingredientes, mezclando todo para integrar bien y homogenizar la mezcla.
- Una vez terminada la mezcla de los ingredientes, se procesó en una licuadora durante un minuto, para homogenizar el preparado. El producto obtenido se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 9.5 °C.

Preparación del bioinsecticida: La preparación del bioinsecticida se obtuvo a partir del uso de hojas frescas y semillas de plantas con propiedades insecticidas. Para la elaboración se utilizaron 200 g del material vegetal de la planta de neem y 2 litros de agua. Las hojas previamente fueron desinfectadas con agua destilada.

El bioinsecticida fue elaborado utilizando el método de baño María, fueron mantenidos en ese estado hasta alcanzar una temperatura de 40 °C por 15 minutos, posteriormente se procedió a filtrar la solución obtenida y la mitad de esa solución se volvió a colocar a baño María con el mismo material vegetal antes usado por un periodo de 15 minutos y hasta alcanzar nuevamente 40 °C.

La solución obtenida de cada bioinsecticida se diluyó con agua hasta obtener la dosis requerida para los tratamientos definidos.

Aplicación del bioinsecticida en larvas: Cada uno de los bioinsecticidas preparados fue disuelto con agua destilada de acuerdo a la dosis que le correspondía. Hojas de plantas de maíz de aproximadamente 15 días de edad fueron utilizadas para los bioensayos. Las hojas de maíz pasaron por un proceso de limpieza con agua común y agua destilada, posteriormente fueron fragmentadas en pedazos de 10 cm<sup>2</sup>. Los fragmentos de hojas fueron sumergidos en cada solución del bioinsecticida elaborado, y ofrecido a larvas de tercer estadio. Se realizó recambio de alimento a las larvas cada 2 días. Para el tratamiento control los fragmentos de hojas tiernas de maíz fueron sumergidos en agua destilada.

#### Variables evaluadas y procesamiento estadístico

Por conteo se registró la cantidad de larvas vivas desde las 48 horas hasta el final del tiempo del experimento, a las 192 horas. Larvas de *S. frugiperda* fueron expuestas por un periodo de 8 días (192 horas) al alimento tratado con las diferentes dosis del bioinsecticida. La mortalidad fue verificada en intervalos de 24 horas hasta alcanzar el tiempo máximo de evaluación (192 horas), para cada uno de los tratamientos incluyendo el tratamiento control. Las larvas del insecto fueron consideradas como muertas cuando no mostraron señales de movimiento al ser tocadas con un pincel.

Con la cantidad de las larvas vivas se incursionó en la determinación de la supervivencia por Kaplan-Meier, en la cual se determinó dentro del resumen del procesamiento de los casos por cada uno de los tratamientos, la cantidad de larvas muertas y larvas vivas o casos censurados y el porcentaje que representan respecto a la población total. Para el tiempo de supervivencia con un intervalo de confianza del 95,0 % de confiabilidad se determinaron el valor promedio y la desviación de su error, además de los límites inferior y superior del valor medio para el mismo intervalo de confianza.

Rebasa (2004) considera que los casos censurados son aquellos en los que no se registra la segunda opción o terminal, por lo que es un tiempo incompleto o censurado.

Se determinó además el gráfico de funciones de probabilidad de supervivencia acumulativa de los cuatro tratamientos respecto al tiempo. Se aplicó la prueba del Logaritmo del rango de Mantel y Cox (Mantel, 1966), la cual es una prueba no paramétrica que se empleó con la finalidad de determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre las curvas de probabilidad de los cuatro tratamientos. La misma calcula a través del tiempo el número de eventos terminales esperados, cuyo valor final se compara por distribución Chi-cuadrado (Rebasa, 2004). Se considera una técnica robusta (Hosmer & Lemeshow, 1999), en el que todos los puntos del tiempo son ponderados por igual.

Todo el procesamiento estadístico de los datos se realizó a través del paquete estadístico SPSS versión 22 (IBM, 2017).

### **Análisis y discusión de los resultados**

En el resumen de los casos (Tabla 1) de las variables y estadísticos para cada tratamiento, la dosis de neem de 9,4 cc aplicada a las larvas de *Spodoptera frugiperda* lograron el porcentaje más bajo de supervivencia, con solo el 3,3 %, cuyo valor fue incrementándose a medida que la dosificación del producto vegetal fue disminuyendo, con un 33,3 % para la dosis de 7,50 cc, de 43,3 % para 5,62 cc, mientras que el mayor porcentaje de supervivencia se alcanzó en el tratamiento con agua destilada.

Los valores promedios del tiempo de supervivencia con un intervalo de confianza del 95,0 % (Tabla 1) para los valores estimados fueron menores en la dosis de 9,4 cc con 173,6 días, y a medida que la dosis se incrementó, ese tiempo de supervivencia de las larvas del insecto aumentó, hasta alcanzar un máximo de 183,6 días en el tratamiento con agua destilada, que

coincide además con el mayor valor de desviación del error. Para los límites inferior y superior, los menores valores de ambos límites se encontraron en la menor dosis del producto, con similar tendencia para los valores estimados del tiempo de supervivencia.

**Tabla 1. Variables y estadísticos por cada tratamiento**

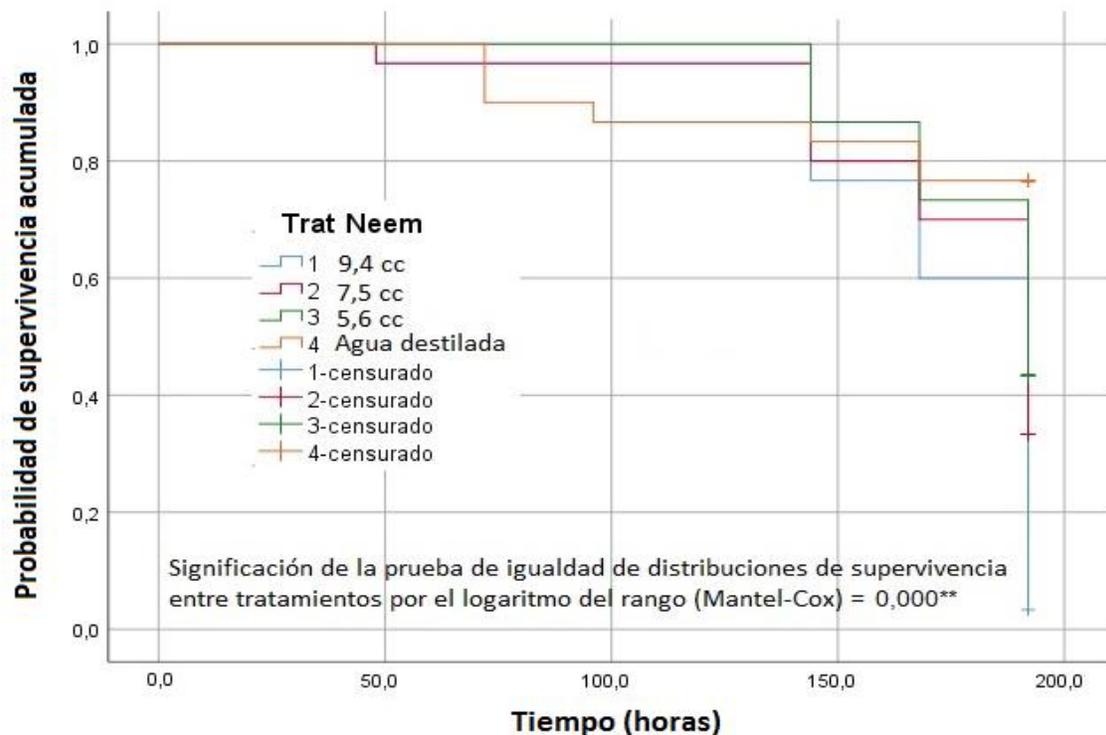
Resumen de casos					Medias tiempo de supervivencia.			
Trat	N	L	LV	%	Est.	DE	LI	LS
9,4 cc	30	29	1	3,3	173,6	5,6	162,6	184,6
7,5 cc	30	20	10	33,3	176,8	5,6	165,8	187,8
5,6 cc	30	17	13	43,3	182,4	3,2	176,0	188,7
Agua	30	7	23	76,7	183,6	7,1	179,6	189,6
Global	120	73	47	39,2	176,6	2,8	171,1	182,1

**Nota:** N es el tamaño de la población, LM son las larvas muertas, LV las larvas vivas o casos censurados y su porcentaje. Las medidas del tiempo de supervivencia para un intervalo de confianza (IC) del 95,0 %, con el valor estimado de la media (Est.) y la desviación de su error (DE), y los límites, inferior (LI) y superior (LS).

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la prueba del logaritmo del rango (Figura 1) de distribuciones de la supervivencia a través del tiempo entre los cuatro tratamientos.

La probabilidad de supervivencia desde las 48 horas y hasta cerca de las 150 horas se mantuvo para todos los tratamientos por encima de una probabilidad de 0,8 (Figura 1). A partir de las 155 horas aproximadamente se inicia un descenso pronunciado de la supervivencia por debajo de 0,8 ó del 80,0 por ciento, que se hace notable al final del período de tiempo. Al terminar el intervalo de tiempo evaluado, los menores valores de probabilidad de supervivencia correspondieron a 9,4 cc del producto con valores de supervivencia casi nulos, seguido del tratamiento con 7,5 cc con una supervivencia en términos de probabilidad de cerca de 0,4, y con los valores mayores de probabilidad de supervivencia en la dosis de 5,6 cc y el tratamiento control.

Figura 1. Gráfico de funciones de probabilidad de supervivencia de Kaplan-Meier de forma acumulativa respecto al tiempo para cada uno de los tratamientos, y la significación para  $p < 0,05$  de la prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia entre los tratamientos por la prueba del logaritmo del rango de Mantel-Cox.



Hernández et al (2021) al analizar la capacidad insecticida de polifenoles de compuestos extraídos de semillas de neem sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*, encontraron entre los compuestos detectados por extracción fitoquímica a la esculina, que es un compuesto de las hidrocumarinas, la cual produce un efecto negativo en la actividad de la enzima trehalasa con relación estrecha en el vuelo de los insectos. Además, los compuestos que presentaron una actividad inhibitoria sobre esta enzima pueden ocasionar pérdida de peso en las larvas del insecto, incluso su muerte, y afectar de esta forma su supervivencia. Otros compuestos encontrados en la investigación fueron del tipo antociánicos como la delfinidina 3-O-glucosil-glucósido y malvidina 3-O-glucósido, los que interactúan con otros tipos de flavonoides y causan efecto sinérgico y antagónico (Hidalgo, 2012).

En los extractos de semillas de neem los autores antes mencionados también encontraron compuestos polifenólicos como la sinensetina y 6-prenilnaringenina, el primero es una polimetoxiflavona de fuerte actividad biológica, donde se incluye actividad antifúngica y antibacteriana, entre otras, compuesto que es capaz incluso de unirse a la prostaglandina, a la que se atribuyen propiedades insecticidas al afectar el proceso de alimentación de los insectos (Hossain & Ismail, 2016). El segundo compuesto, la 6-prenilnaringenina estimula la vía de la hidroxilación de estrógenos no tóxicos (Wang et al., 2016). Los mismos autores responsabilizan también de la muerte de las larvas de *Spodoptera frugiperda* a compuestos polifenólicos detectados como la sinensetina y a su efecto sinérgico con otros compuestos.

Hernández et al (2021) en el gráfico de función de la distribución de la probabilidad de la supervivencia en función del tiempo por Kaplan-Meier, demostraron que la misma comenzaba a disminuir por efecto de extractos de semillas de neem a partir de las 15 horas aproximadamente. Molina (2001) encontró que la mortalidad de las larvas de la plaga por ingestión del bioinsecticida, ocurrió a partir del cuarto día.

Este tipo de extractos a partir de vegetales presentan como efecto benéfico ser menos contaminante al medio, por la ausencia de un efecto residual, y por consiguiente no contaminante, por lo que es considerada una alternativa amigable con el ambiente. Aun así, debe desarrollarse un intenso e intencionado programa de capacitación con los productores de maíz en la región de maicera de Mocache, Los Ríos, Ecuador, con la finalidad de incrementar el empleo de estos bioproductos y disminuir el uso de agroquímicos contaminantes.

### **Conclusiones**

1. Los extractos del neem tienen efecto insecticida sobre la mortalidad de las larvas de *Spodoptera frugiperda* que se incrementa a partir de las 40 horas de aplicados.

2. El efecto insecticida de los extractos del neem sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda* disminuye a medida que desciende la concentración del extracto utilizado.

### Referencias bibliográficas

Balasubramani, A., Kennedy, J. S., Geethalakshmi, V. y Sathiah, N. (2022). Impact of elevated carbon dioxide on the bionomics of maize fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: an age-stage, two-sex life table approach. *International Journal of Pest Management*.

<https://doi.org/10.1080/09670874.2022.2027550>

Centre of Agriculture and Bioscience International. (2020). Datasheet: *Spodoptera frugiperda* (Fall armyworm). Invasive species compendium. Wallingford, UK:CABI.

Cerna, A., Coronado, M. F., Doria, M., García, P., & Fachin, G. (2021). Formulación de dieta artificial para la crianza de *Spodoptera frugiperda* utilizando insumos de la región de San Martín. *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 1(2), 40-52.

<https://doi.org/10.51252/raa.v1i2.103>

Chávez, A., Rodríguez, R., & Miranda, D. (2021). Evaluación de extractos vegetales en la germinación de semillas de arroz (*Oryza sativa*), cultivar LP-5 en Yara, provincia Granma. *REDEL. Revista Granmense de Desarrollo Local*, 5(2), 120-131.

Hernández, A., Rodríguez, R., Sáenz, A., López, C., Flores, A., Ascacio, J., Estrada, B., & Osorio, E. (2021). Insecticidal capacity of polyphenolic seed compounds from neem (*Azadirachta indica*) on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) larvae. *Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 56(12).

<https://doi.org/10.1080/03601234.2021.2004853>

- Hidalgo, M. A. (2012). *Antocianos. Metabolismo y actividad biológica* [Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid]. Madrid, España.  
<https://eprints.ucm.es/id/eprint/20093/>
- Hosmer, D. W., & Lemeshow, S. (1999). *Applied survival analysis: regression modelling of time to event data*. New York: Wiley.
- Hossain, M. A., & Ismail, Z. (2016). Quantification and enrichment of sinensetin in the leaves of *Orthosiphon stamineus*. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(2), 1338-1341.  
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.02.016>
- Gómez, Y., Tornés, N., & Aguilar, Y. (2021). Efecto de diferentes dosis de Quitomax en el crecimiento de plántulas de pimiento (*Capsicum annum*, L.). *REDEL. Revista Granmense de Desarrollo Local*, 6(1), 30-39.
- IBM SPSS Statistic Base 22. (2017). IBM Cooperation. Armonk, NY. USA.
- Mantel, N. (1966). Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemotherapy Reports*, 50(3), 163-70.  
<http://garfield.library.upenn.edu/classics1983/A1983QB30100002.pdf>
- Molina, N. (2001). Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*, 59, 76-77.  
<https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/6884>
- Moreno, L., & González, G. (2019). Evaluación de productos bioactivos en semillas en bandejas en el cultivo del pimiento (*Capsicum annum*, L.). *REDEL. Revista Granmense de Desarrollo Local*, 3(2), 220-228.
- Rebasa, P. (2004). Conceptos básicos del análisis de supervivencia. *Cirugía Española*, 78(4), 222-230. DOI:[10.1016/S0009-739X\(05\)70923-4](https://doi.org/10.1016/S0009-739X(05)70923-4)

Wang, S., Dunlap, T. L., Howell, C. E., Mbachu, O. C., Rue, E. A., Phansalkar, R., Shao-Nong, C., Pauli, G. F., Dietz, B. M., & Bolton, J. L. (2016). Hop (*Humulus lupulus* L.) extract and 6-prenylnaringenin induce P450 1A1 catalyzed estrogen 2- hydroxylation. *Chemical Research in Toxicology*, 29(7), 1142–1150.

<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00112>