



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FÁRMACOBIOLOGÍA

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

Prospección de bio-insecticidas con potencial modulador de resistencia a insecticidas en *Spodoptera frugiperda* a partir de las plantas malezas *Tagetes lucida*, *Melinis repens* y *Chloris gayana*.

Presenta:

OVIDIO ALEJANDRO MORGAN BOTELLO

Asesor de Tesis:

Dr. Francisco Javier Espinosa García

Co-Asesor de Tesis:

Dr. Rafael Torres Martínez

Morelia, Michoacán, Diciembre, 2023.

El presente trabajo de tesis fue realizado en el Laboratorio de Ecología Química y Agroecología del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad perteneciente a la Universidad Nacional Autónoma de México, campus Morelia, Michoacán apoyado por la Universidad Nacional Autónoma de México (Proyecto DGAPA/PAPIIT-IG200821); y el Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES-POFJEG) y fondos personales de FJEG.



DEDICATORIA

Le dedico todos los resultados, esfuerzos y aprendizajes obtenidos al realizar este proyecto a toda mi familia y amigos. Principalmente a mis padres José Ovidio Morgan González y María Guadalupe Botello Aguilar que me apoyaron en todo momento de mi vida, tanto en momentos buenos como en los malos. Gracias por estar siempre enseñándome a afrontar las dificultades y creer en mí mismo, sin perder nunca la esperanza ni rendirme en el intento. Ustedes formaron a la persona que soy hoy, mis principios, mis valores, mi gran optimismo, mi empeño y perseverancia para alcanzar mis metas, y todo esto sin esperar nada a cambio, simplemente por amor.

También, quiero dedicar este trabajo a mis hermanos Santiago, Estefanía y Lupita por estar ahí siempre, ser la fuente de inspiración y alegría en cada momento de mi vida, sin su compañía no tendría la fortaleza que hoy poseo, gracias los quiero mucho.

Por último, les dedico este trabajo a todos mis amigos y maestros, quienes formaron parte vital de mi formación personal y académica, los que están y los que ya no están entre nosotros, los aprecio demasiado, Gracias.

¡Gracias a todos!

Y recuerden:

“Al final todo estará bien, y si no está bien, es que no hemos llegado al final”.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a Dios por brindarme el valor, la fortaleza, el coraje y la vida para seguir el camino correcto cada día.

Le doy gracias infinitas a mis padres José Ovidio Morgan González y María Guadalupe Botello Aguilar, no tengo con que pagarles todo lo que han hecho por mí, agradezco todo lo que me han enseñado desde mi niñez, así como cada detalle, cada risa, cada momento, cada desvelada, cada palabra de aliento, llamadas de atención y regaños que me dieron, pero sobre todo el esfuerzo inmenso que tuvieron que hacer para poder brindarme estudios a lo largo de mi vida, los amo y les agradeceré por todo siempre.

Agradezco a mis hermanos Edgar Santiago Morgan Botello, Estefanía Morgan Botello y María Guadalupe Morgan Botello, por apoyarme cada uno a su manera, no tendría la fortaleza y sabiduría que me han enseñado, ustedes son una parte importante de mi inspiración, han causado un gran impacto en mí, desde su llegada y hasta el día de hoy, los amo y siempre los llevo en mi corazón.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, y a cada uno de los profesores de la Facultad de Químico Farmacobiología, que contribuyeron en mi formación académica.

Gracias enormes a mis asesores, Dr. Francisco Javier Espinosa García y Dr. Rafael Torres Martínez, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, conformado por Yolanda M. García Rodríguez, Guadalupe Torres Gurrola, María de la Luz Sierra Ruíz y Juan Daniel Corona Hernández. Gracias a todos los integrantes del Laboratorio de Ecología Química y Agroecología, por aceptarme como uno de los suyos, brindarme todas las herramientas, consejos, aprendizaje, amistad y conocimientos necesarios para realizar este proyecto, de todo corazón muchas gracias.

Agradezco a mis revisores de tesis: Dr. Rafael Salgado Garciglia, M.C. Rosa María Trujillo Aguirre, M.C. Eréndira Solache Huacuz, Biól. Yolanda M. García Rodríguez y Dra. Guadalupe Torres Gurrola, gracias por todos los comentarios y sugerencias que ayudaron a mejorar este trabajo de tesis.

Agradezco a todos mis familiares, amigos, compañeros y profesores que formaron parte de cada etapa de mi vida, cada risa, cada fiesta, cada juego, cada momento divertido y cada tarde de estudios o relajación que me brindaron, cada consejo o explicación ofrecida, muchísimas gracias. Les agradezco demasiado a todos mis amigos de la facultad, a los de Pátzcuaro y sus alrededores, los de Morelia, los del laboratorio del IIES, los del hospital y a mis amigos futboleros de la cancha, los quiero un montón y les agradezco su apoyo y compañía siempre, gracias, por tanto.

Quiero dar un agradecimiento especial al Dr. Rafael Torres Martínez por que más que ser mi co-asesor, se convirtió en un gran amigo, me apoyo en todo, creyendo en mí, alentándome a seguir con el proyecto incluso en los momentos en los que me quería dar por vencido, nunca dudo de mi potencial y por ello le tengo un gran aprecio y le agradezco por todos los consejos, el conocimiento compartido, los chistes, bromas, las aclaraciones de dudas que me resolvió a lo largo de mi estancia en el instituto, muchísimas gracias por todo Doc, se le quiere mucho.

1. ÍNDICE GENERAL.	Pág.
1. ÍNDICE GENERAL.	i
1.1 ÍNDICE DE FIGURAS.	iv
1.2 ÍNDICE DE TABLAS.	vii
2. RESUMEN	1
3. ABSTRACT	2
4. INTRODUCCIÓN.	3
5. ANTECEDENTES.	6
5.1 Producción de maíz en el mundo.	6
5.2 Producción de maíz en México.	6
5.3 Problemática en el cultivo de maíz.	8
5.3.1 Pérdidas por Hongos.	9
5.3.2 Microorganismos que afectan el maíz.	9
5.3.3 Bacterias que afectan la producción de maíz.	12
5.3.4 Insectos que afectan el cultivo de maíz.	12
5.4 <i>Spodoptera frugiperda</i> .	13
5.4.1 Ciclo y desarrollo de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	15
5.5 Control de plagas	17
5.5.1 Clasificación de los plaguicidas.	18
5.5.2 Toxicocinética y metabolismo de los plaguicidas.	19
5.5.3 Toxicidad de los insecticidas.	21
5.5.4 Resistencia a los insecticidas.	23
5.6 Alternativas para el control de plagas.	29

5.7 Búsqueda de nuevos compuestos con actividad insecticida.	32
5.8 Plantas malezas con potencial biocidas.	35
5.9 <i>Tagetes lucida</i> Cav.	38
5.10 <i>Melinis repens</i> Willd.	41
5.11 <i>Chloris gayana</i> Kunth.	42
6. JUSTIFICACIÓN.	44
7. HIPÓTESIS.	45
8. OBJETIVOS.	46
8.1 OBJETIVO GENERAL.	46
8.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.	46
9. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.	47
10. MATERIALES Y MÉTODOS.	48
10.1 Colecta del material vegetal.	48
10.2 Extracción por maceración con disolvente.	48
10.3 Análisis químico de los extractos metanólicos y hexánicos de <i>Tagetes lucida</i> , <i>Chloris gayana</i> y <i>Melinis repens</i> .	49
10.4 Fraccionamiento de los extractos hexánico y metanólico por cromatografía líquida en columna.	51
10.5 Análisis por cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas de los extractos.	52
10.6 Mantenimiento de la cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> para la realización de los bioensayos.	52
10.7 Bioensayo de toxicidad por contacto en <i>Spodoptera frugiperda</i> .	54

10.8	Determinación de la actividad moduladora de la resistencia a cipermetrina de los extractos y fracciones en <i>Spodoptera frugiperda</i> .	54
10.9	Calculo de índices de sinergismo, adición o antagonismo de los extractos y fracciones.	55
10.10	Análisis estadístico.	55
11.	RESULTADOS.	56
11.1	Extractos de <i>Tagetes lucida</i> , <i>Chloris gayana</i> y <i>Melinis repens</i> obtenidos por maceración.	56
11.2	Determinación del efecto insecticida y modulación de la resistencia a cipermetrina de los extractos crudos de <i>Tagetes lucida</i> , <i>Chloris gayana</i> y <i>Melinis repens</i> .	56
11.3	Composición química de los extractos de <i>Tagetes lucida</i> , <i>Chloris gayana</i> y <i>Melinis repens</i> .	61
11.4	Fraccionamiento de los extractos de <i>Tagetes lucida</i> y <i>Chloris gayana</i> .	66
11.5	Actividad insecticida y modulación de la resistencia a cipermetrina de las fracciones de <i>Tagetes lucida</i> y <i>Chloris gayana</i> .	74
11.6	Composición química de las fracciones activas obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de <i>Tagetes lucida</i> y <i>Chloris gayana</i> .	81
12.	DISCUSIÓN.	83
13.	CONCLUSIONES.	89
14.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	90

1.1 ÍNDICE DE FIGURAS.	Pág.
Figura 1. Mapa del valor en porcentaje de producción de maíz por entidad federativa en la República Mexicana en el año 2017.	7
Figura 2. Organismos que causan afecciones a la planta <i>Zea mays</i> . A) Síntomas achaparramiento del maíz ocasionado por <i>Spiroplasma kunkelli</i> , B) Síntomas del carbón común ocasionado por <i>Ustilago maydis</i> , C) Daño provocado por las larvas de <i>Diatraea saccharalis</i> en el tallo de maíz y D) Rayado fino en hojas de maíz producido por virus MRFV.	10
Figura 3. Afecciones y sintomatología en la planta del maíz (<i>Zea mays</i>) ocasionados por el ataque de <i>Spodoptera frugiperda</i> . A) Daños en la mayoría de las hojas desarrolladas; B) Abundante daño en el sitio de crecimiento que va aumentando hasta la defoliación total de la planta; C) Manchas en las hojas causadas por larvas de los primeros estadios de crecimiento larval y D) Mordeduras o agujeros visibles en el crecimiento de las hojas.	15
Figura 4. Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	17
Figura 5. Factores que afectan la selección de la resistencia a los insecticidas en las poblaciones de insectos.	25
Figura 6. Mecanismos de resistencia asociados a piretroides. La molécula representada es la deltametrina.	27
Figura 7. Estructuras químicas de los metabolitos secundarios de las plantas que poseen actividad insecticida.	34
Figura 8. Planta de <i>Tagetes lucida</i> en etapa de floración.	40

Figura 9.	Planta del pasto rosado <i>Melinis repens</i> . A) matorral y B) flores color rosáceas características de la planta.	41
Figura 10.	Planta de <i>Chloris gayana</i> . A) Espiguillas unilaterales de la planta, B) matorral de <i>C. gayana</i> en un entorno silvestre.	42
Figura 11.	Plantas localizadas en su estado silvestre; A) <i>Tagetes lucida</i> , B) <i>Chloris gayana</i> y C) <i>Melinis repens</i> .	49
Figura 12.	Maceración en diferentes solventes para las plantas de A) <i>Melinis repens</i> y B) <i>Chloris gayana</i> .	50
Figura 13.	Fraccionamiento por cromatografía en columna de los extractos metanólicos (A) y hexánicos (B) de <i>Tagetes lucida</i> .	51
Figura 14.	Curva control de cipermetrina sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> .	57
Figura 15.	Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina del extracto hexánico (a) y metanólico (b) de <i>Tagetes lucida</i> en <i>S. frugiperda</i> .	58
Figura 16.	Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina del extracto hexánico (a) y metanólico (b) de <i>Chloris gayana</i> en <i>S. frugiperda</i> .	59
Figura 17.	Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina del extracto hexánico (a) y metanólico (b) de <i>Melinis repens</i> en <i>S. frugiperda</i> .	60
Figura 18.	Fracciones del extracto hexánico (A) y metanólico (B) de <i>Tagetes lucida</i> .	66
Figura 19.	Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto hexánico de <i>Tagetes lucida</i> , revelado con luz UV 254 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).	68

Figura 20.	Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto metanólico de <i>Tagetes lucida</i> , revelado con luz UV 365 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).	69
Figura 21.	Fracciones del extracto hexánico (A) y metanólico (B) de <i>Chloris gayana</i> .	70
Figura 22.	Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto hexánico de <i>Chloris gayana</i> , revelado con luz UV 254 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).	72
Figura 23.	Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto metanólico de <i>Chloris gayana</i> , revelado con luz UV 365 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).	73
Figura 24.	Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina de la Fracción 2 (a), Fracción 3 (b) y Fracción 4 (c) del extracto hexánico de <i>Tagetes lucida</i> en <i>Spodoptera frugiperda</i> .	75
Figura 25.	Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina de la Fracción 2 (a), Fracción 3 (b) y Fracción 4 (c) del extracto metanólico de <i>Tagetes lucida</i> en <i>Spodoptera frugiperda</i> .	77
Figura 26.	Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina de la Fracción 3 (a), Fracción 4 (b) y Fracción 5 (c) del extracto hexánico de <i>Chloris gayana</i> en <i>Spodoptera frugiperda</i> .	78
Figura 27.	Actividad insecticida y moduladora de la resistencia a cipermetrina de la Fracción 2 (a), Fracción 3 (b) y Fracción 4 (c) del extracto metanólico de <i>Chloris gayana</i> en <i>Spodoptera frugiperda</i> .	79

1.2 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Ejemplos de plantas, extractos o metabolitos que poseen actividad insecticida sobre ciertas especies de insectos.	36
Tabla 2.	Rendimiento de los extractos de las tres plantas colectadas.	56
Tabla 3.	Índices de sinergismo, adición y/o antagonismo de los extractos metanólicos y hexánicos de las plantas <i>Tagetes lucida</i> , <i>Chloris gayana</i> y <i>Melinis repens</i> en combinación con cipermetrina _{DL50} .	61
Tabla 4.	Identificación de compuestos del extracto hexánico de <i>Tagetes lucida</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	62
Tabla 5.	Identificación de compuestos del extracto metanólico de <i>Tagetes lucida</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	63
Tabla 6.	Identificación de compuestos del extracto hexánico de <i>Chloris gayana</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	64
Tabla 7.	Identificación de compuestos del extracto metanólico de <i>Chloris gayana</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	64
Tabla 8.	Identificación de compuestos del extracto hexánico de <i>Melinis repens</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	65
Tabla 9.	Identificación de compuestos del extracto metanólico de <i>Melinis repens</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	65

Tabla 10.	Rendimiento de las fracciones obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de <i>Tagetes lucida</i> .	67
Tabla 11.	Rendimiento de las fracciones obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de <i>Chloris gayana</i> .	71
Tabla 12.	Índices de sinergismo, adición y/o antagonismo de las fracciones activas de los extractos de las plantas <i>Tagetes lucida</i> y <i>Chloris gayana</i> en combinación con cipermetrina _{DL50} .	80
Tabla 13.	Identificación de compuestos de la fracción 3 del extracto hexánico de <i>Tagetes lucida</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	81
Tabla 14.	Identificación de compuestos de la fracción 3 del extracto metanólico de <i>Tagetes lucida</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	81
Tabla 15.	Identificación de compuestos de la fracción 4 del extracto hexánico de <i>Chloris gayana</i> mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.	82
Tabla 16.	Compuestos mayoritarios identificados en los extractos de las tres plantas y fracciones con reporte de actividad insecticida en diversas especies de insectos.	88

2. RESUMEN

El cultivo de maíz es susceptible al ataque de múltiples plagas resistentes a varios tipos de insecticidas, destacando al gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* como principal plaga, donde el uso excesivo de insecticidas para combatirlo ha afectado al ambiente, salud humana y a las especies benéficas, despertando una necesidad de buscar alternativas de mayor sustentabilidad. Por ello en el presente trabajo de tesis se evaluó la actividad insecticida de los extractos hexánicos y metanólicos, además de las fracciones de las malezas, *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens* sobre larvas de *S. frugiperda* como alternativa bio-plaguicida. Los resultados de los bioensayos *in vivo* de toxicidad por contacto sobre larvas L3 de *S. frugiperda* mostraron que el extracto hexánico de *T. lucida* [62.5 µg/mL] causó mortalidad de 25% de larvas; en combinación con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad aumentó al 92.5%. Para el extracto hexánico de *C. gayana* [333 µg/mL], la mortalidad fue 17.5% y en combinación con cipermetrina_{DL50}, llegó al 97.5%. En *M. repens*, el extracto hexánico causó un 43.3% de mortalidad [2600 µg/mL], y aumentó a 80% al combinarse con cipermetrina_{DL50}. En el extracto metanólico de *M. repens* [975 µg/mL] causó mortalidad del 33.3%, mientras que al combinarse con cipermetrina_{DL50}, aumentó al 80%. En *C. gayana* metanólico [437.5 µg/mL], causó mortalidad del 15% y en combinación con cipermetrina_{DL50} alcanzó 47.5%. Las fracciones con mayor actividad fueron las siguientes: la fracción 3 del extracto metanólico de *T. lucida* [350 µg/mL] causando mortalidad de 26%, y al combinarse con cipermetrina_{DL50}, aumentó a 75%. La fracción 4 del extracto hexánico de *C. gayana* [237.5 µg/mL], no mostró actividad insecticida por sí sola, en cambio, en combinación con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad alcanzó un 87.5%. Por otra parte, el análisis químico por CG-EM permitió identificar a metil eugenol, herniarina, escoparona, umbeliferona y escopoletina en la fracción 3 del extracto hexánico de *T. lucida*. El análisis de la fracción 4 del extracto hexánico de *C. gayana* mostró que el *p*-vinilguaicol, ácido linolénico, ácido linoléico etil éster y ácido esteárico etil éster son los compuestos mayoritarios de dicha fracción. En conclusión, los extractos de *T. lucida* poseen la mayor actividad insecticida en comparación con los extractos *C. gayana* y *M. repens*. La combinación de los extractos hexánicos de *T. lucida* y *C. gayana* con cipermetrina, aumentan la susceptibilidad a dicho insecticida en *S. frugiperda*. Por otra parte, la fracción 4 del extracto hexánico de *C. gayana* no posee una actividad insecticida por sí sola, sin embargo, presenta la mayor capacidad de aumentar la mortalidad en las larvas cuando se le combina con cipermetrina.

Palabras clave: Bio-plaguicida, extractos, fracciones, gusano cogollero, insectos plaga.

3. ABSTRACT

The corn crop is susceptible to the attack of multiple pests resistant to various types of insecticides, highlighting the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* as the main pest, where the excessive use of insecticides to combat it has affected the environment, human health and beneficial species, awakening a need to seek alternatives for greater sustainability. Therefore, the insecticidal activity of hexanic and methanolic extracts and fractions of the weeds *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* and *Melinis repens* on *S. frugiperda* larvae was evaluated as an alternative biopesticide in this thesis. The results of *in vivo* contact toxicity bioassays on L3 larvae of *S. frugiperda* showed that the hexane extract of *T. lucida* [62.5 µg/mL] caused 25% larval mortality; in combination with cypermethrin_{DL50}, mortality increased to 92.5%. For the hexane extract of *C. gayana* [333 µg/mL], mortality was 17.5% and in combination with cypermethrin_{LD50}, it reached 97.5%. In *M. repens*, the hexane extract caused 43.3% mortality [2600 µg/mL], and increased to 80% when combined with cypermethrin_{LD50}. In *M. repens* methanolic extract [975 µg/mL] caused 33.3% mortality, while when combined with cypermethrin_{LD50}, it increased to 80%. In methanolic *C. gayana* [437.5 µg/mL], it caused 15% mortality and in combination with cypermethrin_{LD50} it reached 47.5%. The fractions with the highest activity were the following: fraction 3 of the methanolic extract of *T. lucida* [350 µg/mL] caused mortality of 26%, and when combined with cypermethrin_{LD50}, it increased to 75%. Fraction 4 of the hexane extract of *C. gayana* [237.5 µg/mL] did not show insecticidal activity by itself, but in combination with cypermethrin_{LD50}, mortality reached 87.5%. On the other hand, chemical analysis by GC-MS allowed the identification of methyl eugenol, herniarin, scoparone, umbelliferone and scopoletin in fraction 3 of the hexane extract of *T. lucida*. Analysis of fraction 4 of the hexane extract of *C. gayana* showed that p-vinylguaiacol, linolenic acid, linoleic acid ethyl ester and stearic acid ethyl ester are the major compounds in this fraction. In conclusion, *T. lucida* extracts have the highest insecticidal activity compared to *C. gayana* and *M. repens* extracts. The combination of hexane extracts of *T. lucida* and *C. gayana* with cypermethrin increased susceptibility to this insecticide in *S. frugiperda*. On the other hand, fraction 4 of the hexane extract of *C. gayana* does not possess insecticidal activity on its own, however, it has the greatest ability to increase larval mortality when combined with cypermethrin.

4. INTRODUCCIÓN.

La agricultura es indispensable para las necesidades alimenticias de la sociedad, entre las cuales se destaca el maíz como uno de los principales cultivos en México y el mundo (SAGARPA, 2017). Debido a su amplio cultivo es susceptible al ataque de múltiples plagas que afectan su producción y calidad, esto ha ocasionado la necesidad de utilizar plaguicidas como cipermetrina, lambda cyalotrina, metomilo, y azadiractina de una manera desproporcionada (COFEPRIS, 2020).

En la actualidad el uso excesivo de insecticidas organoclorados, organofosforados, piretroides, carbamatos, azadiractinas y neonicotinoides, ha causado un considerable impacto ecológico provocando afecciones en la salud humana, dañando al suelo, a plantas y a las especies que son benéficas para el cultivo como las abejas o a enemigos naturales de las plagas (García-Gutiérrez *et al.*, 2012; Shao *et al.*, 2013).

La aplicación constante de estos compuestos tóxicos favorece el desarrollo de resistencia a los insecticidas en los insectos plaga, debido a los factores biológicos, genéticos y operacionales que predisponen la resistencia de los insectos, lo que conlleva a requerir concentraciones más elevadas, ocasionando mayor erosión, infertilidad y acumulación de residuos inorgánicos en la tierra (OMS, 1993; Vargas *et al.*, 2008; Carbajal *et al.*, 2019).

Los insectos poseen factores promotores de resistencia a los insecticidas, tales como cambios en comportamiento, metabolismo, impermeabilización a toxinas o bien por insensibilidad en el sitio de acción o sobreexposición a enzimas degradativas (Fernández, 2013; Álvarez *et al.*, 2015). Estos mecanismos incluyen la capacidad de detoxificar, metabolizar y disminuir los componentes insecticidas que llegan a los tejidos objetivo, así como modificar el sitio de acción para reducir su eficacia. En lo anterior están implicadas enzimas de detoxificación, como el citocromo P450 monooxigenasas, esterasas y glutatión s- transferasas o bien, mutaciones de gen en los canales sodio/potasio o en los genes que codifican las proteínas receptoras afectadas por insecticidas (Fernández-García, 2013; Guedes *et al.*, 2019).

Esta situación ha fomentado la necesidad de buscar alternativas para el control biológico de insectos plaga con una mayor sustentabilidad, menor impacto ecológico y de bajo costo como en el caso de rotenonas, piretroides, azadiractinas, o esfingósidos, las que también suelen ser factores promotores de selección de resistencia cuando son usados en su forma original o como derivados sintéticos (Leng *et al.*, 2011; Fernández-García, 2013). Por ello se ha investigado la posibilidad de implementar el uso de compuestos extraídos de plantas como alternativas de inhibición o disminución de resistencia a los plaguicidas dado que su impacto ambiental sería menor (Nava-Pérez *et al.*, 2012). Existen inhibidores de resistencia de carácter comercial como es el caso de butóxido de piperonilo que inhibe vías de detoxificación enzimática implicadas en la resistencia a piretroides de algunos insectos como las chinches de cama y mosquitos (Cáceres *et al.*, 2023).

Las plantas poseen la capacidad de sintetizar y almacenar una gran cantidad de compuestos químicos que no interfieren en el metabolismo primario llamados metabolitos secundarios, como los alcaloides, terpenos, fenoles, cumarinas, taninos, etc., que presentan actividad contra insectos, hongos y bacterias. Estos metabolitos tienen ventajas sobre los insecticidas sintéticos pues son biodegradables y de baja toxicidad para mamíferos, además de funcionar como defensa o atrayentes de herbívoros o mutualistas las plantas (Bhalla *et al.*, 2005; Guevara-González *et al.*, 2019). Dentro de metabolitos secundarios vegetales se conocen cerca de 200,000 compuestos identificados y esa gran diversidad está relacionada con los muy diversos mecanismos genéticos y bioquímicos de las plantas; esos mecanismos anulan selectivamente a los metabolitos secundarios vegetales (Harborne, 2000; Pichersky y Gershenzon, 2002). Los herbívoros y patógenos han adquirido mecanismos que anulan la toxicidad de los metabolitos secundarios a causa de procesos coevolutivos, tales como supresión de síntesis, mutación de sitio blanco, transformación, excreción y evasión (Després *et al.*, 2007).

Dentro de la diversidad de plantas, contamos con el grupo considerado como malezas, muchas de las cuales interfieren directa o indirectamente con los cultivos, causando disminución en los rendimientos de los sistemas agrícolas (Salazar e

Hincapié, 2013). Las malezas se están investigando por sus propiedades fitoquímicas, farmacológicas y biológicas (Riaz *et al.*, 2018). Los extractos de plantas contienen metabolitos secundarios que pueden tener un efecto activo sobre el entorno donde se aplique, por ende, los extractos de las malezas tienen el potencial insecticida y modulador de resistencia.

Entre la gran variedad de insectos resistentes a plaguicidas destaca el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: *Noctuidae*), que ataca preferentemente al maíz (*Zea mays*). Se considera la plaga más importante de ese cultivo, pues ocasiona daños que van desde la aparición de manchas amarillas a la defoliación de la planta (Figura 3), provocando retraso de desarrollo y disminución del rendimiento del cultivo (Valdez-Torres *et al.*, 2012).

En este proyecto se plantea realizar una evaluación de la actividad insecticida de los extractos hexánicos y metanólicos de las plantas, *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae), *Chloris gayana* Kunth (Poaceae) y *Melinis repens* (Willd.) Zizka (Poaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* en su tercera etapa larval como alternativa bio-plaguicida para disminuir el uso excesivo de insecticidas. Además, se analizará si los extractos de las plantas tienen la capacidad de modular la resistencia del gusano cogollero al piretroide cipermetrina, al aplicarlos en combinación.

Tagetes lucida es una maleza arvense y ruderal que generalmente se utiliza en infusiones para tratar algunas enfermedades y posee efecto antibacterial (Torres-Martínez *et al.*, 2022) e insecticida (Guadarrama-Cruz *et al.*, 2012). *Chloris gayana* es una maleza invasora que podría poseer metabolitos secundarios con actividad insecticida y antibacterial (Oliveira, 2014). También se considera al pasto rosado *Melinis repens* una planta invasora que usualmente se usa como ornamental y medicinal por lo que podría ser una opción para el control biológico de plagas resistentes a insecticidas (Novoa *et al.*, 2012).

5. ANTECEDENTES

5.1. Producción de maíz en el mundo

La estadística de producción a nivel mundial de *Zea mays* por año indica que Estados Unidos es el principal productor y exportador de maíz, cosecha aproximadamente 200 millones de toneladas anuales y exporta 20% de las mismas. Ocupa el primer lugar en la producción de cultivos transgénicos, entre los que destacan soya, canola, algodón y maíz, destinando 50% de esta producción a la producción de *Z. mays* (Agricultural Research Service, 2010).

Estados Unidos es el principal país productor de maíz en el mundo, seguido de China y Brasil, con 184 millones/ha, en conjunto aportan aproximadamente el 64% del volumen mundial de maíz (FAO, 2017). Perú genera alrededor de 3.3 ton/ha (FAO, 2017). Colombia produce 1 110 874 ton, lo cual no satisface la gran demanda nacional conllevando a importar anualmente grandes cantidades de maíz (2 703 920 ton) (Fenalce, 2010; Méndez *et al.*, 2012).

México ocupa el 8° lugar en producción mundial de maíz, en 2017 exportó a 17 países, principalmente a Venezuela (58%), Kenia (33%) y Estados Unidos (4%), entre otros (6%) lo que nos ubica como el 10° exportador mundial de maíz grano (ASERCA, 2018).

5.2. Producción de maíz en México

En México el maíz es el cultivo más importante en la actividad agrícola, es el grano nacional presente en todos los estados de la república mexicana. Es el principal cultivo tanto por la superficie que se siembra como por el volumen de producción. En México ningún otro cultivo tiene tanta importancia como el maíz. El maíz grano representa 85% del volumen nacional de cereales y 2.8% de la producción mundial, ocupando el cuarto lugar (SAGARPA, 2013).

La importancia del maíz en México no sólo se debe a su riqueza en biodiversidad, sino también a su carácter económico-agrícola, social y cultural. Más de dos millones de familias campesinas mexicanas cultivan 59 razas nativas de maíz en aproximadamente 6 millones de hectáreas (66% del total nacional) (Turrent, 2008).

Del total cultivado, sólo 14% se realiza bajo riego, el resto, 86%, corresponde a áreas de temporal, principalmente a cargo de pequeños productores campesinos, que cultivan sobre todo para el autoconsumo. Las mayores superficies sembradas con maíz se encuentran en la zona subhúmeda tropical y en la templada húmeda y subhúmeda (Mapes, 2009). El volumen de producción para el año 2010 fue de 23 301 879 toneladas y una superficie sembrada de 7 860 705 hectáreas (González y Castañeda, 2014).

La producción de maíz en 2017 fue de 27.8 millones de toneladas, mientras que la superficie sembrada en el mismo año fue de 7.5 millones de hectáreas, gran parte del territorio nacional es propicio para la producción por lo que en los 32 Estados de la República Mexicana se produce maíz grano (ASERCA, 2018).

Los principales estados productores se pueden apreciar en la figura 1: Sinaloa (22%), Jalisco (14%), Estado de México (8%), Michoacán (7%), Guanajuato (6%), Guerrero (5%), Veracruz (5%), Chiapas (5%), Chihuahua (4%), Puebla (4%) y el resto de los estados representan el (20%) restante (ASERCA, 2018).

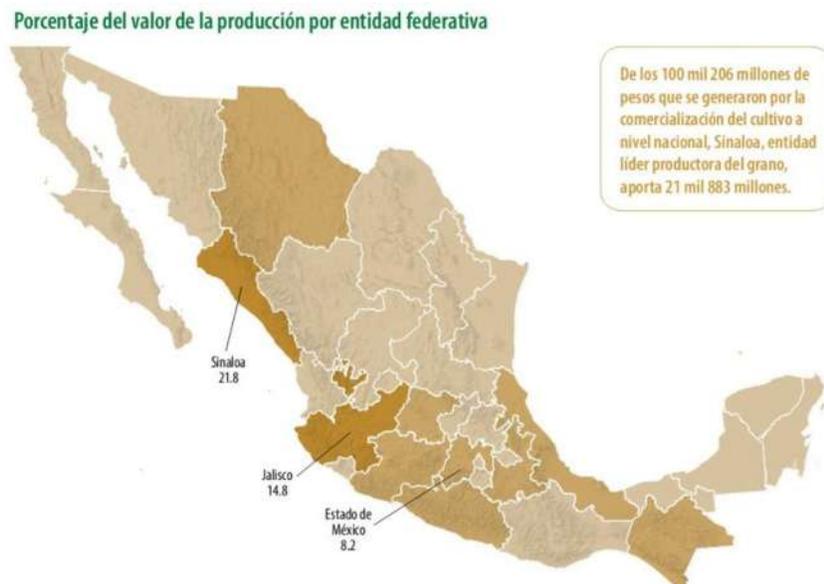


Figura 1. Mapa del valor en porcentaje de producción de maíz por entidad federativa en la República Mexicana en el año 2017 (Imagen tomada del SIAP, 2018).

5.3 Problemática en el cultivo de maíz

El maíz es el principal cultivo producido en la República Mexicana, siendo el cereal más consumido diariamente en la dieta de los mexicanos en sus diversos platillos, desde una tortilla hasta platillos como tamales, pozole, quesadillas, caldos, atoles, entre muchos otros usos tanto para alimento humano, como para el ganado o bien para el aprovechamiento industrial (ASERCA, 2018). En 2017 México produjo una cantidad de 27.8 millones de toneladas de maíz (ASERCA, 2018).

Sin embargo, en la producción de tal cantidad de maíz se puede ver que los volúmenes y la calidad de la producción de maíz en nuestro país son limitados debido principalmente a la incidencia de plagas y enfermedades, y por factores abióticos como altas y bajas temperaturas, la salinidad de los suelos, la deficiencia de nutrimentos en los suelos y la sequía (Moreno-Limón *et al.*, 2011).

Es por ello que, a causa de los notables cambios en la temperatura, existe una gran probabilidad de que la precipitación aumente en latitudes altas, y tenga una disminución en la mayoría de las regiones subtropicales. Dado que la agricultura, en gran medida depende de las variaciones de temperatura y precipitación, resultará muy afectada en latitudes medias (Liu *et al.*, 2010).

La disponibilidad y captación de la radiación solar, el agua y los nutrientes son factores básicos para el crecimiento y supervivencia de la planta de maíz. El incremento de temperatura provoca problemas en la polinización, incremento de la respiración, así como la disminución de la fotosíntesis, además de ocasionar la reducción de las etapas de desarrollo y como consecuencia la disminución del ciclo fenológico del maíz (Ramos *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2010; Ojeda-Bustamante *et al.*, 2011); mientras que temperaturas bajas detienen o reducen su crecimiento y desarrollo (Stöckle *et al.*, 2010). Diversos autores señalan que la agricultura de temporal es más vulnerable a los cambios en las condiciones climáticas que la agricultura de riego (Sánchez-Cohen *et al.*, 2012).

Así mismo el aumento de la temperatura combinado con el del CO₂ podría incrementar las plagas, malezas y enfermedades (Ruiz-Corral *et al.*, 2011), por

tanto, se puede deducir que el maíz en condiciones de riego podría verse afectado a futuro por el cambio climático debido a la disminución de agua en los embalses, ya que la agricultura es la actividad que consume mayor cantidad de agua en el planeta (Sánchez-Cohen *et al.*, 2012).

En México, aproximadamente el 81% de la superficie sembrada con maíz es de temporal, y esta proporción es cinco veces mayor que la de riego, esta situación demuestra que el maíz de temporal es más vulnerable a la variabilidad en las condiciones climáticas (SIAP, 2018).

5.3.1 Pérdidas por Hongos

Además del cambio climático entre los factores que afectan la calidad y la producción del maíz se encuentran los hongos que comúnmente atacan al maíz tanto en campo como en almacén son aquellos que pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*; estos organismos son productores potenciales de micotóxicas (Hernández-Delgado *et al.*, 2007; Montes *et al.*, 2009).

En su gran mayoría las enfermedades de las plantas son causadas por hongos, de las cuales 100 000 especies de hongos descritas, 8 000 son patógenas para las plantas. Los hongos pueden ser parásitos o saprófitos, algunos pueden vivir de una u otra forma dependiendo de las condiciones de ambiente y otros son parásitos obligados, requiriendo tejido vivo. Los hongos pueden atacar todas las partes de la planta y causar una amplia variedad de síntomas, desde podredumbre de raíces y manchas en hojas, hasta marchitamientos y enanismos. El método y sitio de infección están muy relacionados con la forma de diseminación (Hernández-Delgado *et al.*, 2007).

5.3.2 Microorganismos que afectan el maíz

El maíz es una de las plantas más importantes en la alimentación humana y animal, y es vulnerable a diversas enfermedades causadas por microorganismos, incluyendo hongos, bacterias y virus (Munkvold y White, 2016), las diversas afectaciones pueden observarse en la figura 2.

Entre los organismos que pueden afectar a la producción de maíz se encuentran también algunos microorganismos como por ejemplo los *Mollicutes* los cuales son un grupo de bacterias muy pequeñas que carecen de pared celular, poseen gran plasticidad, son pleomórficas y capaces de atravesar los filtros que impiden el paso de las bacterias comunes y están incluidas en la clase *Mollicutes*. Se diferencian dos tipos de estos organismos: los que tienen formas helicoidales: espiro plasmas y los no helicoidales: fitoplasmas (Lenardón *et al.*, 1997).

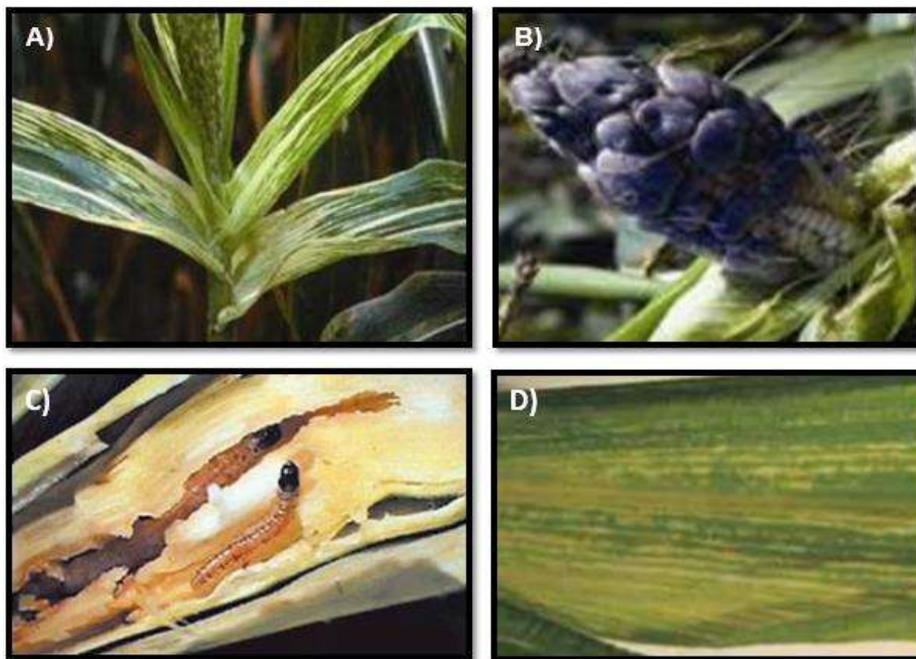


Figura 2. Organismos que causan afecciones a la planta *Zea mays*. A) Síntomas achaparramiento del maíz ocasionado por *Spiroplasma kunkellii*, B) Síntomas del carbón común ocasionado por *Ustilago maydis*, C) Daño provocado por las larvas de *Diatraea saccharalis* en el tallo de maíz y D) Rayado fino en hojas de maíz producido por virus MRFV. (Modificado de Martínez, 2022 y Pecci *et al.*, 2012).

Otra bacteria pequeña, helicoidal, móvil, que se denomina *Spiroplasma kunkellii*, del Orden Mycoplasmatales, Familia Spiroplasmataceae. Ocasionan enanismo en plantas de maíz, clorosis en los márgenes de las hojas, enrojecimiento de las hojas más viejas, proliferación de mazorcas y reducción del sistema radical. Los espiro

plasmas se ubican en el floema, donde aparecen acumulaciones de polisacáridos que tapan parcialmente los conductos impidiendo la circulación normal de la savia; puede infectar naturalmente a varias especies perennes de maíz (*Zea mays*, *Zea mexicana*; *Zea perennis* y *Zea diploperennis*) que constituyen importantes reservorios (Nault, 1980).

En 1977 Bradfute y Robertson, comprobaron, mediante microscopía óptica, que el achaparramiento del maíz en el área de la Mesa Central, México, era causado por un *mollicute*; La cual su sintomatología consiste en que la infección de los fitoplasmas produce alteración del metabolismo del nitrógeno, de los hidratos de carbono, y aumenta la concentración de aminoácidos, alterando asimismo los reguladores de crecimiento de las plantas ocasionando un amarillamiento en las márgenes de las hojas, luego un enrojecimiento que se extiende a toda la lámina y posteriormente a la totalidad de la planta (Lenardón *et al.*, 1997).

Otros microorganismos que afectan al maíz son:

Roya del maíz (*Puccinia sorghi*): Es una enfermedad fúngica que se caracteriza por la aparición de manchas amarillas en las hojas de la planta, que posteriormente se vuelven marrones y necróticas (Munkvold y White, 2016).

Fusariosis (*Fusarium spp.*): Es una enfermedad fúngica que se caracteriza por la aparición de mohos en la raíz y la base del tallo de la planta, ocasionando una disminución en el rendimiento de la planta y la producción de micotóxicas que son peligrosas para la salud humana y animal (Simón y Golik, 2018).

Mancha foliar (*Cercospora zea-maydis*): Es una enfermedad fúngica que se caracteriza por la aparición de manchas foliares de color marrón en las hojas de la planta, puede causar una disminución en el rendimiento de la planta y una menor calidad del grano (Munkvold y White, 2016).

Mal de Río Cuarto (MRC) (Virus del Mal de Río Cuarto): Es una enfermedad viral transmitida por insectos chupadores que se caracteriza por la aparición de manchas cloróticas en las hojas y la reducción del tamaño y el rendimiento de la mazorca (Simón y Golik, 2018).

Tizón de maíz (*Erwinia chrysanthemi*): Es una enfermedad bacteriana que se caracteriza por la aparición de manchas acuosas y necróticas en las hojas y el tallo de la planta, causando disminución en el rendimiento de la planta (Munkvold y White, 2016).

5.3.3 Bacterias que afectan la producción de maíz

Además de los factores como el cambio climático, la contaminación del suelo por el uso de químicos o desechos industriales, la contaminación del cultivo por organismos fúngicos, bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, o bien por el uso de aguas residuales por acumulación de metales pesados en el suelo, la principal causa de que existan considerables pérdidas en la producción del cultivo de maíz son la gran cantidad de plagas que afectan el desarrollo idóneo de la planta y su producto (Ayala *et al.*, 2013).

Se considera plaga en cultivo a cualquier organismo que compite con el ser humano por la alimentación producida afectando desde la manifestación de manchas que reducen el valor monetario del producto hasta pérdida total de este (Saunders *et al.*, 1998). La constante aparición y desarrollo de plagas ocasiona un gran daño ocasionado una pérdida del rendimiento de producción de aproximadamente el 30%, desde la etapa de establecimiento hasta el almacenamiento del grano de maíz (Valdez-Torres *et al.*, 2012). Se consideran más de 80 especies o complejos de especies plagas en el cultivo de maíz y alrededor de 50 plagas consideradas como ocasionales (Fernández, 2002).

5.3.4 Insectos que afectan el cultivo de maíz

La incidencia de los insectos plaga y el daño que ocasionan en los cultivos, es dada por diversos factores como las condiciones ambientales, fenología del cultivo (Ayala *et al.*, 2013) y hábitos del insecto plaga, ya sea alimenticios e inclusive características biológicas (Reséndiz *et al.*, 2016).

Dentro de la gran variedad de insectos resistentes que atacan al cultivo de maíz ocasionándole daños en sus diferentes partes desde el tallo, hojas, raíces y producto, en su mayoría pertenecen al grupo de los lepidópteros tales como el

gusano elotero *Helicoverpa zea* Boddie y *Spodoptera exigua* Hübner que son plagas que atacan a la hoja y mazorca del maíz, su ciclo de vida completo, se desarrolla entre 15-25 días, pasando por cinco estadios larvarios (González-Maldonado *et al.*, 2015).

Otra plaga, *Diatraea saccharalis* Fab, es un insecto lepidóptero (*Pyralidae*), que tiene como hospederas a plantas gramíneas como el maíz, en su estadio larvario perfora el tallo y efectúa galerías longitudinales en su interior, afectando la fisiología de la planta, y en consecuencia el potencial de producción del cultivo (Leiva y Lannone, 1994).

Otra plaga que daña el maíz, especialmente la zona radicular es la gallinita ciega *Phyllophaga spp.* (*Coleoptera: Melolonthidae*), el daño lo causa en etapa larval, provocando que se pierda la germinación y se desarrollen plantas raquíticas, además de estas plagas existen una cantidad numerosa de plagas que atacan al maíz: *Helicoverpa zea* Boddie, *Euxesta stigmatias* Loew, *Epitrix argentinensis* Bryant (pulguilla del tabaco), *Nezara viridula* (chinche verde), *Elasmopalpus lignosellus* (Barrenador menor del maíz), *Conoderus spp.*, *Agriotes sp.*, *Monocrepidius spp.* (Gusano alambre), *Diatraea saccharalis*, *Diabrotica virgifera* Zeae (gusano alfilerillo), etc. (Leiva y Lannone, 1994).

Los insectos del orden Lepidoptera se consideran como las plagas de mayor importancia, ya que afectan el desarrollo y crecimiento de la planta de maíz (Reséndiz *et al.*, 2016) y sobresale *Spodoptera frugiperda* que provoca retraso en el desarrollo del cultivo y disminución del rendimiento de grano y forraje, afectando la producción a gran escala, ya que se alimenta de tejido vegetal en las primeras etapas fenológicas del cultivo (Núñez *et al.*, 2014) considerándose como el principal insecto plaga del maíz. Este insecto es objeto de este trabajo de investigación.

5.4. *Spodoptera frugiperda*

Para poder comprender de una manera más clara la problemática de las plagas y su relación con el maíz, se tiene que hacer énfasis en la principal plaga que afecta la producción en mayor escala y por ello se tiene que describir a *Spodoptera*

frugiperda, mejor conocido como el Gusano cogollero, el cual posee una preferencia por el cultivo del maíz ocasionando daños en la hoja causando el retardo del desarrollo del cultivo a la que lleva a pérdidas económicas en la producción, es decir, *S. frugiperda* realiza raspaduras sobre las partes tiernas de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas translúcidas; una vez que la larva alcanza cierto desarrollo, empieza a comer follaje perfectamente en el cogollo que al desplegarse sus hojas muestran una hilera regular de perforaciones a través de la lámina o bien áreas alargadas comidas (Fernández, 2002). La infestación severa de *S. frugiperda* ha ocasionado pérdidas en cultivos de maíz de 22-67% en varios países debido a la pérdida de área foliar y retraso o inhibición en la emisión de las inflorescencias (Ramzan *et al.*, 2021). Las principales afecciones y síntomas del ataque del cogollero al maíz se pueden observar en la figura 3.

Durante su ciclo de vida pasa por diversas etapas de desarrollo desde que la hembra coloca los huevecillos en el haz y envés de las hojas del maíz hasta su transformación de larva a su edad adulta, la cual transcurre en varias etapas conocidas como estadios larvales según el tiempo y características físicas de desarrollo en la que se encuentre, para por el último estadio posterior a un estado de mórfosis conocido como pupa comience la etapa adulta del cogollero transformándose en una polilla adulta y repitiendo el ciclo por medio de la reproducción entre *Spodoptera frugiperda* macho y hembra (Fernández, 2002).



Figura 3. Afecciones y sintomatología en la planta del maíz (*Zea mays*) ocasionados por el ataque de *Spodoptera frugiperda*. A) Daños en la mayoría de las hojas desarrolladas; B) Abundante daño en el sitio de crecimiento que va aumentando hasta la defoliación total de la planta; C) Manchas en las hojas causadas por larvas de los primeros estadios de crecimiento larval y D) Mordeduras o agujeros visibles en el crecimiento de las hojas (Modificado de Kleden y Simamora, 2021).

5.4.1 Ciclo y desarrollo de *Spodoptera frugiperda*

El ciclo de *S. frugiperda* se muestra en sus diferentes etapas en la figura 4.

- **Huevecillo:** Son de forma esférica, de estriado radial, de color rosa pálido o verde que se torna de un color grisáceo conforme se acerca el momento de

eclosionar. En esta etapa las hembras depositan los huevos durante las primeras horas de la noche en el haz y envés de las hojas en grupos cubiertos por las segregaciones bucales y escamas para su protección (Luna-López, 2013).

- **Larva:** Posterior a la eclosión las larvas se alimentan del cogollo de la planta y tienen gran preferencia por el maíz para luego trasladarse al resto de la planta para evitar el canibalismo y competencia alimentaria (Sosa y Vitti-Scarel, 2004). Esta etapa dura de 17 a 32 días y pasan por 6 a 7 estadios, desarrollándose paulatinamente en este periodo (SIAP, 2018). Presentan una coloración desde verde castaño a verde oliva, hasta casi negras a medida que se desarrollan; en el máximo desarrollo alcanzan entre 35 a 40 mm de longitud (Luna-López, 2013).
- **Pupa:** Es la etapa de transición entre el último estadio larval y la fase adulta de *S. frugiperda*, es un capullo color caoba denominado pupa, mide de 14 a 17 mm, terminando en dos espigas en forma de “U” invertida con ligeros puntos en su zona abdominal (Fernández, 2002). Esta etapa dura entre 8-13 días y tienen estados de desarrollo en los cuales se aprecia cambio de color; cuando está próxima a emerger oscurece considerablemente (Luna-López, 2013).
- **Edad adulta (polilla):** Es la última etapa del ciclo de vida del cogollero, la polilla vuela con facilidad durante la noche, siendo atraída por la luz. de coloración gris oscura, las hembras tienen alas traseras de color blancuzco, mientras que los machos tienen arabescos o figuras irregulares llamativas en las alas delanteras, y las traseras son blancas. En reposo doblan sus alas sobre el cuerpo, formando un ángulo agudo que permite la observación de una prominencia ubicada en el tórax (Fernández, 2002).

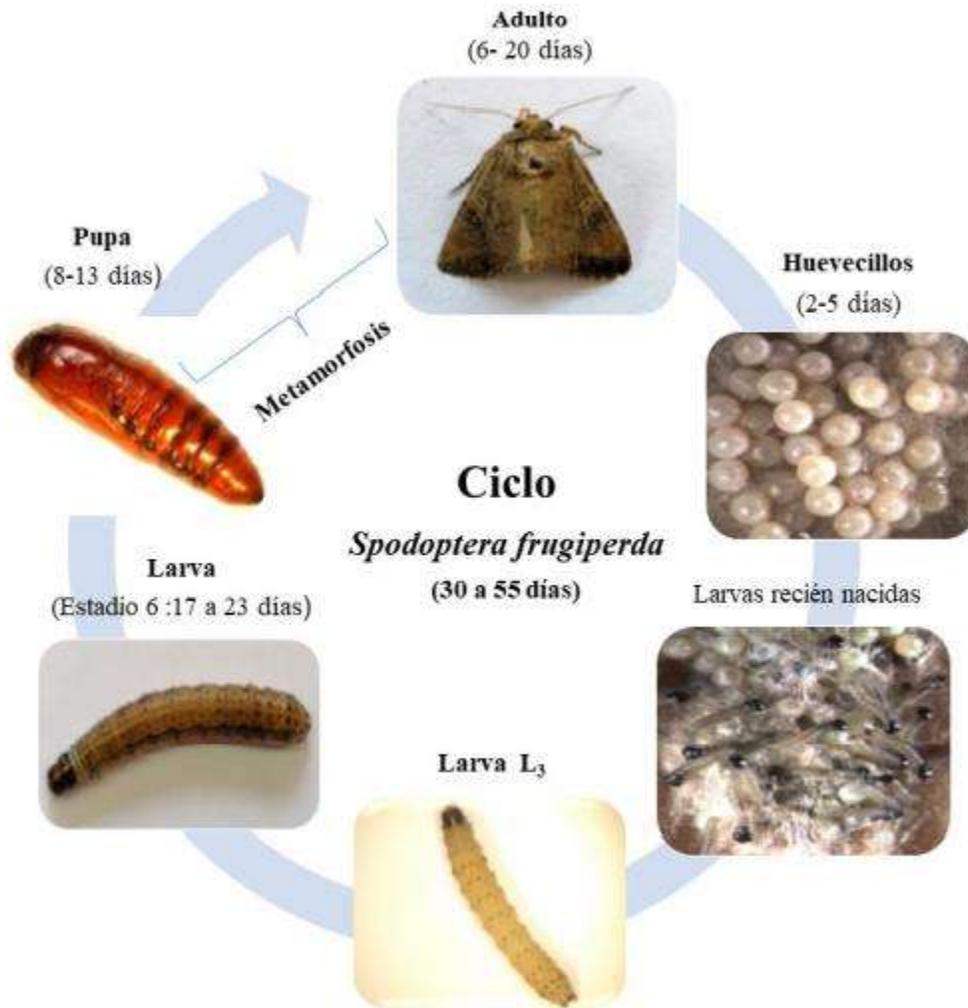


Figura 4. Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* (Imagen tomada de Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

5.5 Control de plagas

Durante muchos años hasta la actualidad las plagas de insectos han sido una gran problemática para el desarrollo de muchos cultivos, ocasionando grandes pérdidas económicas y alimentarias para la agricultura, es por ello que desde el descubrimiento de algunos compuestos insecticidas o bien plaguicidas se han utilizado extensivamente en forma de aerosoles o spray en las zonas de siembra para exterminar las plagas que afectan al producto ocasionado daños tanto al suelo,

como a los trabajadores que se encuentran diariamente en las zonas de siembra ocasionando intoxicaciones por la exposición a estos compuestos a largo plazo. Uno de los primeros compuestos, el Diclorodifeniltricloroetano (DDT) fue sintetizado por Zeidler en 1874, y sus propiedades insecticidas fueron descritas por Paul Müller hacia 1939. El DDT se utilizó por primera vez durante la segunda Guerra Mundial para proteger a los soldados estadounidenses contra enfermedades transmitidas por vector y se comercializó en los EE.UU. en 1945 (Ramírez y Lacasaña, 2001). La pujante industrialización, los intereses económicos de los grandes productores de plaguicidas, así como la necesidad de controlar químicamente las plagas, favoreció su fabricación y consumo a escala mundial (OMS, 1993).

Por definición un plaguicida es aquella sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que pueden administrárseles para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales (Briggs y Carson, 1986).

5.5.1 Clasificación de los plaguicidas.

Los plaguicidas se clasifican en función de algunas de sus características principales, como son la toxicidad aguda, la vida media, la estructura química y su uso (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Según su toxicidad en base a la dosis letal 50 se clasifican en cuatro clases:

- *Clase IA:* insecticidas que son en extremo peligrosos como el Paratión y el Dieldrin.
- *Clase IB:* plaguicidas que son altamente peligrosos como Eldrin y Diclorvos.
- *Clase II:* plaguicidas que son moderadamente peligrosos como lo son DDT o el Clorodano.
- *Clase III:* plaguicidas que son ligeramente peligrosos como lo es el Malatión.

También se clasifican en base a la familia química a la que pertenecen ya sea Organoclorados, organofosforados, carbamatos, Tiocarbamatos, Piretroides, Derivados bipiridilos, derivados del ácido Fenoxiacético, Derivados ácidos cloronitrofenólicos, Derivados de triazinas, compuestos orgánicos del estaño, compuestos inorgánicos y por último compuestos de origen botánico (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Según su vida de efectividad media que son de días hasta 12 semanas se considera como plaguicida no persistente, de 1 a 18 meses se le denomina plaguicida moderadamente persistente, de varios meses a 20 años se considera como plaguicida persistente y se considera plaguicida permanente cuando su duración es indefinida (Kester, 2001).

Otra manera de clasificar a los plaguicidas puede ser por su uso, si es para agricultura, salud pública, ganadería y animales de cuidado doméstico, mantenimiento de áreas verdes o bien reservas de agua, industria o en última instancia para control de plagas en el hogar (Kester, 2001).

5.5.2 Toxicocinética y metabolismo de los plaguicidas.

Entre los insecticidas como el DDT, el Metoxiclor, el HCH/lindano se ha observado que su cinética se encuentra condicionada a sus niveles de alta liposolubilidad y a la incapacidad de las vías metabólicas de biotransformación orgánica y excreción, por lo que se absorben fácilmente por las vías dérmica, respiratoria y digestiva ocasionando que haya una bio-acumulación de estos compuestos y sus metabolitos secundarios, además su intensa lipofilia los hace afines a tejidos grasos como el tejido adiposo u otras grasas neutras como lo es la glándula adrenal generando un efecto estrogénico (Smith y Perfetti, 2019).

Existen dos tipos de rutas metabólicas de los plaguicidas: las reacciones de primera fase (oxidación, reducción e hidrólisis), que generalmente son catalizadas por enzimas hepáticas, y las de segunda fase, que son la conjugación y la síntesis. Los metabolitos resultantes de la primera fase son ligados a moléculas endógenas,

sintetizándose componentes solubles en agua y fácilmente eliminables por bilis y orina, como los metabolitos hidrosolubles de los piretroides (Fait y Colosio, 1998).

Los procesos de biotransformación varían dependiendo de la familia química a la que pertenecen como por ejemplo algunos derivados del clorobenceno como el DDT se transforman en derivados tóxicos liposolubles cuyos metabolitos son DDE, DDD y DDA que son lipofílicos y propensos a acumulación o bien dan lugar a ácidos hidrosolubles que se eliminan por la orina. En cambio, los derivados del lindano se transforman en compuestos epóxidos, más tóxicos, antes de hidroxilarse como los derivados del clorohexano.

Así mismo los organoclorados actúan cambiando las propiedades electrofisiológicas y enzimáticas de las membranas nerviosas ocasionando cambios en el flujo del canal Na^+/K^+ enlenteciendo la repolarización; la mayoría de los compuestos plaguicidas tienen un efecto en las membranas nerviosas ocasionando alteraciones en la sinapsis, las terminales nerviosas (axones), en los canales Na/K , receptores GABA o en enzimas ocasionando cambios hormonales y alteraciones inmunitarias (Ferrer, 2003). Las dosis tóxicas humanas son muy variables: DDT 5 g; metoxiclor 5 g; clordano 40 mg; aldrin > 15 mg; HCH 20 g. En disoluciones con disolventes orgánicos que favorecen su absorción pueden producirse accidentes graves con cantidades inferiores de 1 g. Los signos de intoxicación son expresión de hiperactividad neuronal. (Hayes, 1991).

El cuadro clínico que generalmente se presenta por intoxicaciones por plaguicidas en un inicio se presenta parestesias, confusión, malestar, cefalea y fatiga. Se acompaña de vómitos de probable origen en el sistema nervioso central, dolor abdominal y diarrea. En intoxicaciones graves se producen convulsiones con pérdida de conciencia que se pueden complicar en algunos casos con episodios de hiperexcitabilidad miocárdica y coma, produciéndose la muerte por paro respiratorio, edema agudo de pulmón o fibrilación ventricular. También puede ocasionar insuficiencia hepática o renal (Murphy, 1986; Ferrer, 2003).

5.5.3 Toxicidad de los insecticidas

Los insecticidas son moléculas sintéticas destinadas para matar, atraer, engañar, destruir o mitigar cualquier plaga. Los insecticidas que afectan a los cultivos, se aplican principalmente en la agricultura para proteger los cultivos de insectos, malas hierbas y enfermedades bacterianas o fúngicas durante su producción y almacenamiento. También de ratas, ratones, insectos o diversos contaminantes biológicos. Sin embargo, estos pueden ser tóxicos para el ser humano y la fauna silvestre que suelen ser favorables para el cultivo (Bolognesi y Merlo, 2011).

Aunque los plaguicidas permiten mantener a salvo los cultivos de depredadores u hospederos no deseables, también poseen un efecto adverso en la salud humana y la fauna silvestre benéfica, ocasionando intoxicaciones agudas, sub-crónicas e inclusive la muerte (Espinoza *et al.*, 2003).

Se ha declarado que el uso y manejo incorrecto de los plaguicidas es peligroso para el ser humano y puede manifestarse por intoxicaciones de grado variable y efectos nocivos que pueden presentarse a mediano o largo plazo, tales como carcinogénesis, teratogénesis, esterilidad, mutagénesis, entre otros (COFEPRIS, 2015).

Los síntomas de intoxicación por organoclorados incluyen temblores musculares, ataxia, estimulación del sistema nervioso central, aumento de la frecuencia respiratoria, ansiedad, posturas anormales, fasciculaciones, convulsiones tónicas y clónicas, aumento de la temperatura, emesis y sialorrea. En caso de intoxicaciones por piretroides la sintomatología puede incluir: hiperexcitabilidad, hiperestesia, convulsiones y parálisis (Errecalde *et al.*, 2013).

Las intoxicaciones agudas representan un problema de salud pública que generan cuadros clínicos complejos: desde síntomas como náuseas, visión borrosa, mareos, daños en la piel, salivación excesiva y calambres, hasta cansancio extremo. Sin embargo, la exposición crónica a los plaguicidas puede generar efectos a la salud de mayor complejidad, como enfermedades de las vías respiratorias (tos crónica, sibilancias, disnea u opresión en el pecho), diferentes tipos de cáncer y daños

importantes a sistemas vitales como el respiratorio y el nervioso (Mamane *et al.*, 2015; Smith y Perfetti, 2019; Quinteros *et al.*, 2019). La intoxicación también ocasiona cuadros de depresión, letargia, vómitos, diarrea, hipotensión, bradicardia e hipotermia, cuadro que puede evolucionar hasta la muerte del paciente (Errecalde *et al.*, 2013).

Los casos de intoxicaciones agudas por plaguicidas pueden ser el resultado de diferentes factores. Por ejemplo: una regulación insuficiente en el uso, manejo y comercialización de plaguicidas, débil aplicación del marco regulatorio existente y de los sistemas de vigilancia, falta de capacitación en el uso de plaguicidas, no utilización de equipo de protección personal o mantenimiento deficiente del mismo y las grandes poblaciones que se dedican a la actividad agrícola (Quinteros *et al.*, 2019).

Los insecticidas controlan los insectos interfiriendo en su sistema nervioso o inhibiendo su muda. Por ejemplo, los inhibidores de la acetilcolinesterasa y los agonistas de los canales de sodio actúan sobre el sistema nervioso del insecto, así como los insecticidas neonicotinoides que actúan por su afinidad preferente por los subtipos de receptores nicotínicos (Nauen *et al.*, 2002).

Los neonicotinoides son una familia de insecticidas que actúan en el sistema nervioso central de los insectos y con menor toxicidad en mamíferos. El modo de acción de los neonicotinoides es similar al de los insecticidas derivados de la nicotina, que actúa en el sistema nervioso central. Son agonistas (sustancias capaces de unirse a un receptor celular y provocar una respuesta en la célula con el fin de estimular una función) del receptor nicotínico de la acetilcolina. Actúan por despolarización de la membrana de la célula post-sináptica debido a la entrada de iones sodio y calcio. Activan el receptor nicotínico de la acetilcolina, pero lo hacen de manera persistente, ya que no son sensibles a la acción degradativa de la acetilcolinesterasa (Sánchez, 2003).

En insectos, los neonicotinoides causan convulsiones, hiperexcitación y parálisis que llevan a la muerte, frecuentemente en pocas horas. De este grupo son los insecticidas imidacloprid y tiametoxam, que según la clasificación de los modos de

acción de IRAC pertenece al grupo 4A agonistas del receptor nicotínico de la acetilcolina (Nauen *et al.*, 2002; Sánchez, 2003).

El imidacloprid es un insecticida sistémico y residual con actividad por contacto e ingestión, es absorbido por vía radicular y foliar (Nauen *et al.*, 2002). Los insectos tratados muestran inmediatamente los síntomas del envenenamiento con excitación y parálisis, además muestran actividad antialimentaria en los insectos, evitando inmediatamente la transmisión de virus y controla el daño producido por los insectos (Nauen *et al.*, 2002).

5.5.4 Resistencia a los insecticidas

A lo largo de los años los insectos plaga han desarrollado una resistencia a los insecticidas volviéndose uno de los problemas más importantes que enfrenta la producción agrícola a nivel mundial, tanto así que las Naciones Unidas en 1989, consideró la resistencia a los plaguicidas, entre los cuatro problemas de mayor importancia para el medio ambiente, por lo que dispuso una cantidad importante de recursos orientados a la solución de este problema (Vargas *et al.*, 2008).

La recurrencia de la aparición de insectos plaga a causa del aumento de monocultivos agrícolas, ocasionando un aumento en los ciclos de fumigación, lo que al paso del tiempo el uso excesivo de plaguicidas ha provocado la resistencia a los agentes de fumigación, implicando pérdidas de toneladas de cultivos a nivel mundial (Carbajal *et al.*, 2019).

Para tener en claro el concepto de resistencia se define como la reducción en la susceptibilidad de una población y se evidencia mediante repetidas fallas en la efectividad de un producto, disminuyendo las expectativas de control al ser usado a la dosis recomendada para la plaga y donde las fallas por almacenamiento del producto, aplicación y factores climáticos poco frecuentes pueden ser eliminados (Vargas *et al.*, 2008).

Entre los principales insectos resistentes a los plaguicidas se encuentra el gusano cogollero, la mosca de la fruta, el picudo algodoner, la araña roja, la mosca blanca y el pulgón, siendo las principales plagas que atacan los cultivos en México (Nava-

Pérez *et al.*, 2012; Alatorre-Rosas *et al.*, 2014). Se ha mencionado que la resistencia a los plaguicidas está relacionada con la co-evolución de las especies, indicando que existe una capacidad intrínseca en las especies para adaptarse a los factores de selección promotores de resistencia (Vargas *et al.*, 2008).

Como todo proceso evolutivo de selección, la resistencia requiere de cuatro componentes para expresarse: Primero, la población debe exhibir variación de respuesta al factor de selección, esta variación puede ocurrir como resultado de mutaciones, flujo genético o recombinación sexual. Segundo, una proporción de la población debe morir por causa de la susceptibilidad. Tercero, los sobrevivientes deben adaptarse al factor de selección natural. Cuarto, debe ocurrir la reproducción de los sobrevivientes, para permitir el paso de este factor genético a las próximas generaciones y aumentar la frecuencia del gen portador de la resistencia en las siguientes generaciones (Vargas *et al.*, 2008) (Figura 5).

La resistencia puede deberse a dos mecanismos principales: la sobreexpresión de enzimas degradativas y/o la insensibilidad en el sitio de acción (Figura 6) (Álvarez *et al.*, 2015). Destacándose los mecanismos asociados a esterasas, glutatión S-transferasas y oxidasas de función múltiple. Por otro lado, mutaciones asociadas a la insensibilidad del sitio blanco de los insecticidas como resultado de la modificación estructural o mutación puntual de genes que codifican proteínas diana que interactúan con insecticidas, ha ido evolucionando a durante los últimos años, específicamente las mutaciones V410L, V1016 y F1534C (López-Monroy *et al.*, 2018; Saavedra-Rodríguez *et al.*, 2018; Villanueva-Segura *et al.*, 2020).

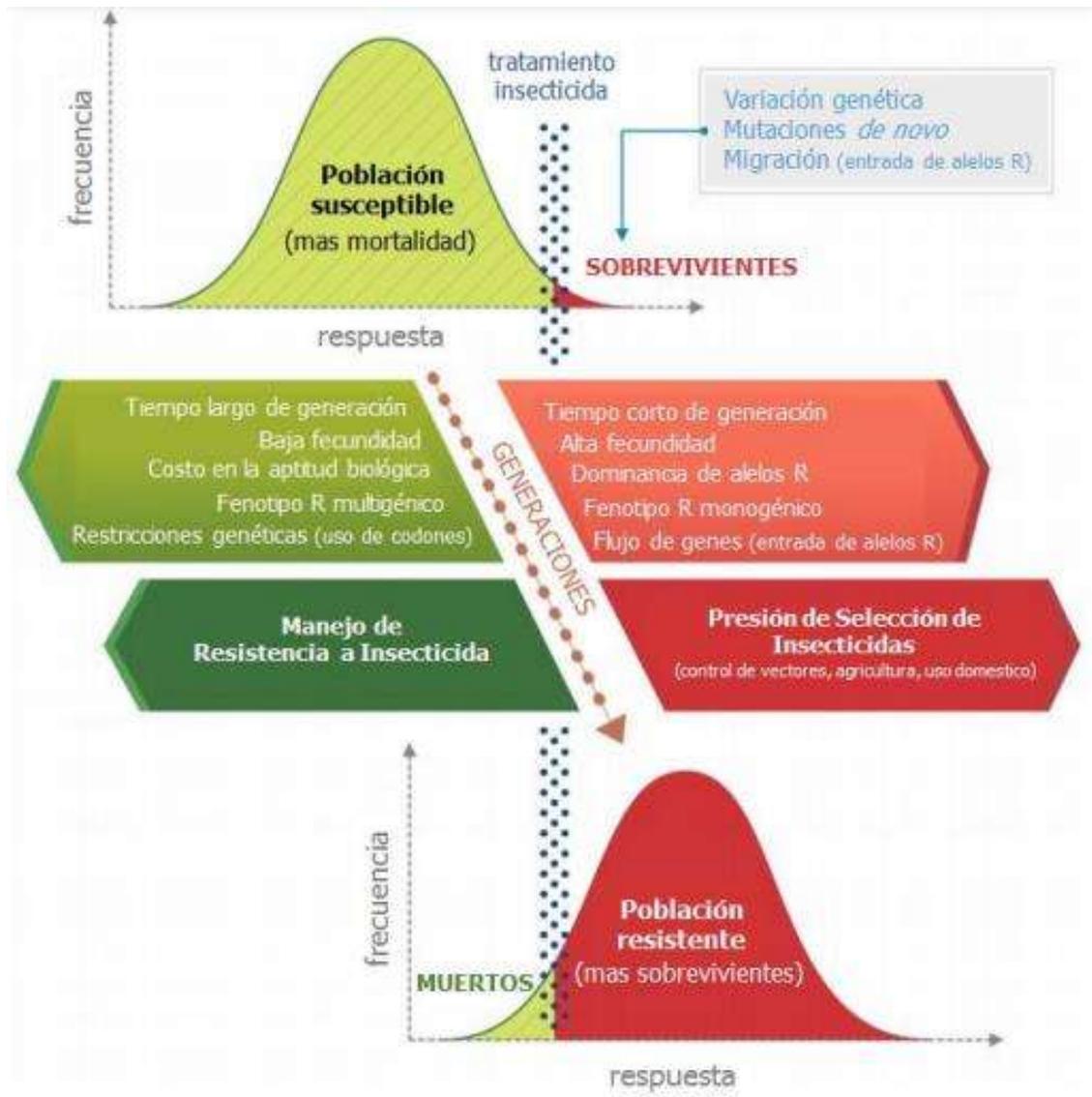


Figura 5. Factores que afectan la selección de la resistencia a los insecticidas en las poblaciones de insectos (Modificado de Dusfour *et al.*, 2019).

La resistencia a los insecticidas puede ser por **resistencia cruzada**, es decir, sucede cuando un mecanismo de resistencia, además de permitir pérdida de susceptibilidad de un insecto a un plaguicida, confiere resistencia contra plaguicidas con el mismo modo de acción (Vargas *et al.*, 2008). También, puede desarrollarse **resistencia múltiple**, utilizando este término cuando dos mecanismos de resistencia o más están operando en el mismo insecto (Bisset, 2002), es la protección contra varios insecticidas no relacionados debido a la coexistencia de

diferentes mecanismos de resistencia seleccionados de manera independiente (Silva *et al.*, 2004).

Existen diferentes mecanismos en que las plagas pueden llegar a ser resistente a los plaguicidas:

Resistencia de comportamiento: Consiste en la pérdida de susceptibilidad por cambio en el comportamiento del insecto frente a los repetitivos programas de control. Esta habilidad puede producirse mediante repelencia o irritancia con la zona tratada con plaguicida (Fernández-García, 2013; Whelan, y Cunningham, 2020).

Resistencia a la penetración: Consiste en una baja absorción del plaguicida debido a la modificación en la cutícula o en el tracto digestivo del insecto. Esta reducción en la penetración del insecticida se traduce en una menor absorción de la toxina en el cuerpo del insecto comparado con las poblaciones susceptibles (Vargas *et al.*, 2008; Whelan, y Cunningham, 2020). Recientemente se identificaron polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) asociados con cada fenotipo e identificaron genes que probablemente estén asociados con los mecanismos de resistencia a los piretroides en una colonia de *A. aegypti* de Tapachula, México, incluida la desintoxicación, la cutícula y los sitios blanco del insecticida (Figura 6) (Saavedra-Rodríguez *et al.*, 2021).

Resistencia metabólica. Los insectos tienen enzimas que degradan cualquier tóxico al que son expuestos, metabolizando los insecticidas a productos no tóxicos, más hidrófilos, y fácilmente excretables. Esta resistencia corresponde al mecanismo típico expresado por los insectos, rompiendo la estructura de los plaguicidas mediante el sistema enzimático pudiendo degradar un amplio espectro de plaguicidas (Vargas *et al.*, 2008; Fernández-García, 2013).

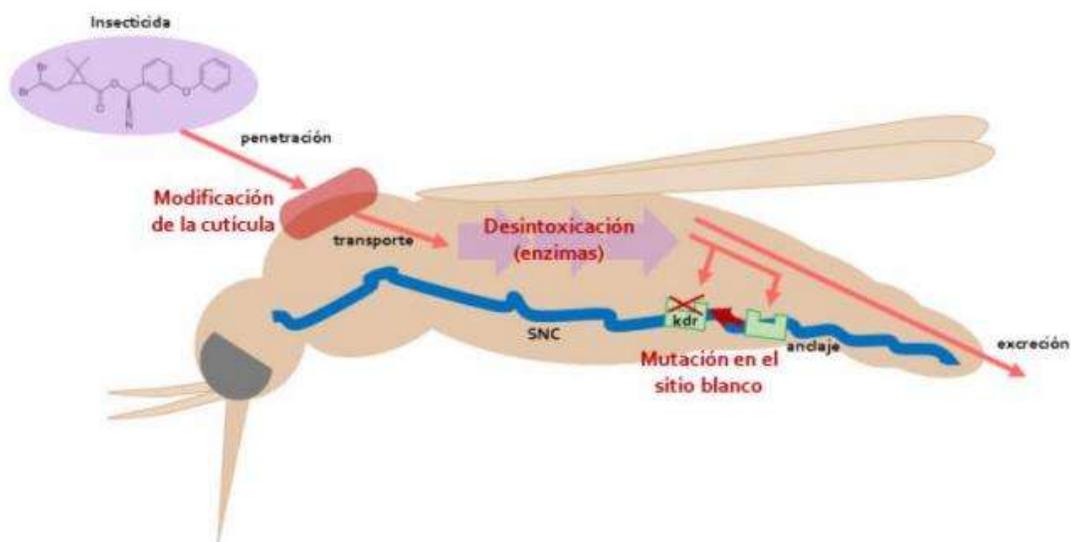


Figura 6. Mecanismos de resistencia asociados a piretroides. La molécula representada es deltametrina (modificado de Nkya *et al.*, 2013).

Existen tres sistemas enzimáticos de detoxificación que metabolizan la materia activa del insecticida de diversos modos: hidrólisis (esterasas), oxidaciones (P450 monooxigenasas) y conjugaciones (glutatión S-transferasas).

- **Esterasas:** constituyen una gran familia de enzimas que son responsables del metabolismo lipídico y de la detoxificación de xenobióticos, entre otras funciones, están implicadas en resistencia a organofosforados, carbamatos y piretroides debido a que son ésteres y pueden ser hidrolizados por esterasas de las que se diferencia carboxiesterasas o fosfortriesterasas según su tipo de hidrólisis (Fernández, 2013; Bisset, 2002).
- **P450 monooxigenasas:** El citocromo P-450 interviene fundamentalmente en reacciones de oxidación, también es capaz de catalizar reducciones, hidrataciones o hidrólisis (Feyereisen, 2005). Salvo contadas excepciones, el P-450 requiere oxígeno molecular y NADPH para oxidar el substrato. Se trata de reacciones de monooxigenación en las que sólo uno de los átomos de oxígeno es incorporado en la molécula del substrato, mientras que el otro es reducido hasta agua (Feyereisen, 2005). Las P450 poseen una gran variedad

de actividades enzimáticas (oxidasa, reductasa, isómeras, etc.), y son el producto de la traducción de los genes CYP (Feyereisen, 2011). Este grupo de enzimas presenta un pico de absorción a una longitud de onda de 450 nm, característica que da nombre a esta familia proteica (Omura y Sato, 1964). Las P450 están implicadas en la resistencia frente a los principales grupos de insecticidas, tales como organofosforados, piretroides, etc. (Fernández, 2013).

- **Glutación S-transferasas:** conforman una familia de enzimas implicadas en la detoxificación de multitud de xenobióticos. Estas enzimas catalizan la unión de una molécula de glutación al insecticida, dando lugar a un compuesto hidrosoluble que se excreta más fácilmente. Se clasifican de acuerdo con la reacción que catalizan como alquil, aril y epoxittransferasas (Terriere, 1984).

Resistencia por insensibilidad en el punto de acción. Corresponde al segundo mecanismo más común de resistencia y está referida al cambio en la estructura del sitio o al número de sitios donde el plaguicida causa toxicidad sobre el insecto (Fernández, 2013)

Generalmente, los insecticidas actúan en un sitio específico del insecto, habitualmente en el sistema nervioso del insecto (piretroides, organofosforados y carbamatos). El sitio de acción puede ser modificado por razas resistentes impidiendo la acción del insecticida. Como resultado, el insecto no será controlado mediante la aplicación de un plaguicida o sólo se afectarán los insectos más susceptibles (García, 2013).

Existen tres puntos principales de la acción de los insecticidas que son afectados por este mecanismo, en la mayoría de los casos el mecanismo involucra una sustitución de un simple aminoácido del sitio activo: la AchE (el blanco para los organofosforados y carbamatos) y los canales de Na⁺ de la membrana de las células nerviosas (para algunos organoclorados y piretroides) y los receptores GABA (para los ciclodienos) (Fernández, 2013).

La gran capacidad intrínseca de los insectos por desarrollar resistencia a los plaguicidas ha despertado la necesidad de indagar en la búsqueda de alternativas que puedan servir como moduladores de resistencia o bien como uso alternativo al uso de estos compuestos tóxicos.

5.6 Alternativas para el control de plagas

El uso de insecticidas químicos es la estrategia que se utiliza con más frecuencia para el control de insectos plagas, aunque represente un peligro para los humanos y el ambiente, esto ha ocasionado la necesidad de buscar alternativas para sustituir o bien disminuir el uso de plaguicidas causales de múltiples afecciones a la salud directa como indirectamente en el consumo del producto con restos de los compuestos utilizados (Wilson y Tisdell, 2001). El uso continuo de los mismos ha causado un daño severo en el ambiente, en la salud humana y reducido la sustentabilidad de la agricultura. La fauna y flora se han visto gravemente afectadas, causando reducción de predadores benéficos para los ecosistemas productivos y ocasionando el aumento y rápida proliferación de numerosas plagas (Wilson y Tisdell, 2001).

A pesar de los impactos negativos que ocasionan, el uso de insecticidas químicos va sigue aumentando es necesario buscar alternativas menos dañinas y redituables para el cultivo y el ambiente, entre las alternativas más exitosas destaca principalmente el uso de agentes de control biológico para plagas de insectos, estos procedimientos consisten en introducir en el seno de las poblaciones de los mismos, factores naturales de regulación como predadores, parásitos, microorganismos patógenos, entre otros (Vega *et al.*, 2009).

A) Tipos de control biológico de plagas

Plaguicidas botánicos: Son derivados de algunas partes o ingredientes activos de las plantas, son eficaces, de menor costo, biodegradables y más seguros en comparación con sus equivalentes sintéticos (Leng *et al.*, 2011). Estos plaguicidas afectan a las poblaciones de insectos disminuyendo su supervivencia debido a los metabolitos secundarios constituyentes como saponinas, taninos, alcaloides, diterpenos y triterpenoides, entre otros, los cuales presentan alta actividad

insecticida, variable toxicidad, ocasionando, mayor mortalidad e inhibición del crecimiento, así como de la supresión de comportamiento reproductivo y reducción de la fertilidad y la fecundidad de los insectos (Jannet *et al.*, 2001).

Existen muchas estructuras de metabolitos secundarios vegetales, entre los cuales destacan:

- ❖ **Terpenos.** Son los principales componentes de los aceites esenciales, provocan repelencia, inapetencia y evitan la ovoposición en insectos (Nava-Pérez *et al.*, 2012).
- ❖ **Fenoles.** Son compuestos hidroxilados que pueden actuar como anti-alimentarios y son tóxicos para nemátodos, ácaros e insectos (Nava-Pérez *et al.*, 2012).
- ❖ **Alcaloides.** Son el grupo con mayor diversidad en cuanto a metabolitos secundarios, tiene una gran variedad de efectos tóxicos para vertebrados e invertebrados (Nava-Pérez *et al.*, 2012).
- ❖ **Glicósidos cianogénicos.** Liberan cianuro cuando se hidrolizan, por lo que son tóxicos y repelentes (Nava-Pérez *et al.*, 2012).
- ❖ **Compuestos azufrados.** Los más importantes son los tiofenos, los cuales tiene acción insecticida y nematicida (Nava-Pérez *et al.*, 2012).
- ❖ **Flavonoides.** Proporcionan color a las plantas y flores. Actúan como inhibidores enzimáticos y tienen actividad repelente en insectos (Nava-Pérez *et al.*, 2012).

Plaguicidas bacterianos: En la actualidad se han desarrollado el uso de bacterias patógenas aisladas para el control biológico de insectos (Demir *et al.*, 2012) el cual consiste en implementar las bacterias en el alimento contaminado que estos consumen; estas bacterias se multiplican en el aparato digestivo de los insectos, produciendo algunas enzimas y toxinas, las cuales dañan las células del intestino medio y facilitan la invasión del hemocele del insecto, donde se multiplican y matan al hospedero por septicemia, por la acción de toxinas o por ambos (Van Driesche *et al.*, 2007).

Mico-insecticidas: Se refiere a la implementación de productos formulados con hongos entomopatógenos que constituyen una pequeña parte de los bio-insecticidas que se encuentran asociados con insectos que viven en diversos hábitats, como el agua, suelo y partes aéreas; por su forma característica de infección, son los microorganismos más importantes que infectan insectos chupadores como áfidos, mosquita blanca, escamas, chicharritas y chinches (Nava-Pérez *et al.*, 2012). Estos hongos invaden la hemolinfa, por lo que la muerte del insecto se debe a una combinación de daños mecánicos producidos por el crecimiento del hongo, desnutrición y por la acción de los metabolitos secundarios o toxinas del hongo (Chul *et al.*, 1999).

Insectos parasitoides y depredadores: Consiste en utilizar insectos benéficos que son enemigos naturales de los insectos plaga para la regulación de sus poblaciones (Rodríguez-del-Bosque y Arredondo-Bernal, 2007). Los parasitoides son insectos que se desarrollan, ya sea dentro o fuera de su hospedero hasta causar la muerte (Villegas-Mendoza *et al.*, 2015). Los depredadores son individuos que se alimentan de insectos plaga (Barrera, 2007); además, se reporta que 24% son depredadores utilizados en el control biológico (Bernal, 2007).

B) Tipos de control químico de plagas

El control químico se refiere a la aplicación de productos insecticidas tales como permetrina, ciflutrin, cipermetrina, clorpirifos, carbofuran y deltametrina (Batista, 2013). El uso de compuestos insecticidas se engloba en los principales grupos, generalmente en organofosforados, piretroides, carbamatos y azadiractina (COFEPRIS, 2020) y se caracterizan por los siguientes:

Carbamatos: Son inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE). Los insecticidas carbamatos son ésteres del ácido carbámico que neutralizan la acetilcolinoesterasa, enzima encargada de destruir la acetilcolina que es un neurotransmisor que asegura la comunicación entre dos neuronas. Al no destruir la acetilcolina, se acumula en las sinapsis neuronales impidiendo la transmisión de mensajes nerviosos lo que acarrea la muerte del insecto. Por ejemplo, el metomilo, es un insecticida con

actividad por vía sistémica y contacto, el cual se caracteriza por su efecto de choque y buena absorción foliar (Fernández-García, 2013; Sánchez, 2003).

Piretroides: Son sustancias químicas que se obtienen por síntesis y poseen una estructura muy parecida a las piretrinas. Son un grupo de plaguicidas artificiales desarrollados para controlar preponderantemente las poblaciones de insectos plaga. Actúan a nivel del sistema nervioso, generando una alteración de la transmisión del impulso nervioso, por medio de una modificación en el canal del sodio de la membrana de la célula nerviosa (García, 2013).

Los piretroides se clasifican en dos tipos, los del tipo I: Son carentes de grupo alfa ciano en su molécula (aletrina, permetrina, tetrametrina, cismetrina, etc.) y piretroides de tipo II: poseen el grupo alfa ciano en su molécula (cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, fenpropanato, etc.). Los compuestos de tipo I inducen picos múltiples de descargas en los nervios sensoriales, en los nervios motores y en las interneuronas dentro del sistema nervioso central, provocando convulsiones. Los compuestos de tipo II despolarizan el potencial de las membranas de los axones, esto reduce la amplitud del potencial de acción y lleva a la pérdida de excitabilidad eléctrica, provocando descoordinación. Estos efectos ocurren porque los piretroides prolongan la corriente que fluye por los canales de sodio al hacer más lento o al impedir el cierre de los canales (Sánchez, 2003; Fernández-García, 2013; García, 2013).

Azadiractina: Insecticida botánico regulador del crecimiento que impide la muda por lo que los insectos mueren. Es extraído del árbol del Neem y actúa por contacto o por ingestión, interfiriendo con el sistema neuroendocrino que controla la síntesis de la ecdisona, responsable del proceso de la muda, de la hormona juvenil e inhibición de la liberación de ecdisona (Sánchez, 2003).

5.7 Búsqueda de nuevos compuestos con actividad insecticida.

Como bien se conoce en la literatura gracias a una gran cantidad de investigaciones, las plantas son una importante fuente de metabolitos secundarios que funcionan

como compuestos que proporcionan defensa contra una gran variedad de plagas de carácter herbívoro como insectos, microorganismos patógenos o bien plantas que buscan competencia con otras plantas, por ende, son de gran importancia para la reproducción de la planta o bien como alternativas para su supervivencia (Guiño, 2003).

De entre las principales características en la composición de las plantas existen sustancias bio-activas que alteran la estructura celular con características deseables: biodegradables y de poca o nula toxicidad en mamíferos (Cordeau *et al.*, 2016; Morra *et al.*, 2018; González, 2019). Estos metabolitos activos se extraen de las partes de las plantas, es decir, de la raíz, hojas, tallos, semillas y flores que la constituyen los cuales poseen diversos efectos, ya sea bio-herbicidas, antifúngicos, alelopáticos, plaguicida, entre otros, lo que despierta un gran interés en la agricultura moderna para adoptar nuevas alternativas para el control biológico de plagas que afectan su producción (Díaz-Mota *et al.*, 2017).

Una característica principal de las plantas es su capacidad para sintetizar y almacenar una gran diversidad de moléculas químicas conocidas como metabolitos secundarios o productos naturales (Bhalla *et al.*, 2005). Algunos metabolitos poseen una implicación ecológica como defensa contra herbívoros, virus, hongos, bacterias y como sustancias alelopáticas (Bourgaud *et al.*, 2001). Entre los numerosos compuestos químicos de las plantas, la mayoría se puede agrupar en categorías químicas principales, incluidos los compuestos de nitrógeno (principalmente alcaloides), terpenoides y fenoles (Bekele, 2018).

Los alcaloides, terpenos y fenoles presentes en las plantas tienen una mayor relevancia agrícola porque pueden ser una alternativa para el control de plagas y enfermedades de cultivos de carácter comercial puesto que al ser de origen biológico suelen ser biodegradables, además de manifestar un menor impacto negativo o daño a la salud u al medio ambiente (Ducrot, 2005; Millan, 2008). La necesidad de utilizar extractos metabólicos de plantas se deriva a partir de la problemática tanto ambiental como a la salud humana que ocasiona el uso de plaguicidas químicos convencionales, problemáticas que abarcan desde el

desarrollo de resistencia en la plaga a controlar, generación de otras plagas secundarias o la exterminación de fauna benéfica para el cultivo (Ducrot, 2005; Millan, 2008). En la tabla 1 se muestran diversas plantas con potencial insecticida ya sea por la efectividad del extracto o metabolito específico.

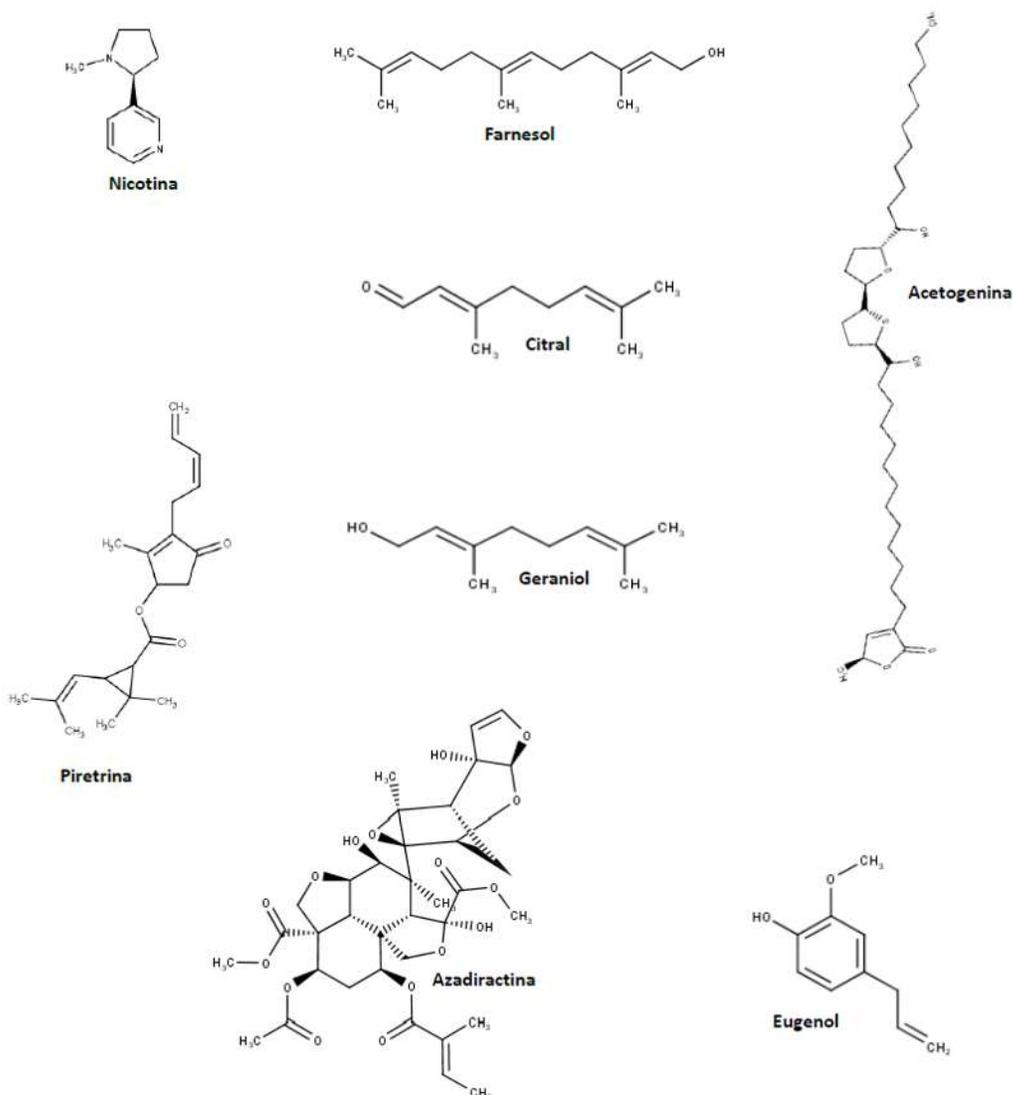


Figura 7. Estructuras químicas de los metabolitos secundarios de las plantas que poseen actividad insecticida (tomado de González, 2019).

5.8 Plantas malezas con potencial biocidas

Dentro de la gran diversidad de plantas existe un grupo denominado como “plantas malezas”, se definen como aquellas plantas silvestres que interfieren directa o indirectamente con el cultivo, que causan disminuciones en los rendimientos obtenidos por los sistemas agrícolas (Salazar e Hincapié, 2013). La denominación de malas hierbas deriva del hecho que son organismos no deseados previamente condenados a ser perseguidos en la constante competencia natural por espacio y recursos (Moreno y Racelis, 2015).

Estas plantas históricamente son acusadas de ser medios de cultivo para enfermedades, servir de protección y sustento de insectos, además de convertirse en un obstáculo físico para la realización de labores dentro del área de cultivo. Convivir con ellas les dará la oportunidad de demostrar que pueden ser utilizadas como barreras protectoras, cultivos trampas, atrayentes naturales (Moreno y Racelis, 2015).

La investigación científica de las plantas maleza en la actualidad ha brindado resultados que invitan a eliminar el término “maleza” en la conceptualización moderna de estas (Guzmán y Martínez-Ovalle, 2019). Diversos estudios han mostrado que extractos acuosos de hojas de las malezas *Achyranthes aspera*, *Solanum xanthocarpum*, *Amaranthus spinosus*, *Ranunculus pensylvanicus*, *Cassia tora* y *Oxalis stricta* demostraron efectividad en la mortalidad los nematodos *Meloidogyne incognita* (Asif et al., 2017).

Por tanto de las plantas con potencial biocida se ha reportado el uso de la gobernadora (*Larrea tridentata*), un arbusto perenne de los desiertos que por medio de sus hojas segrega una resina espesa compuesta en su mayoría por lignanos, fenoles y flavonoides cuyos metabolitos secundarios poseen defensas bioquímicas que repelen a herbívoros, hongos y microorganismos lo que lo hace inmune a gran cantidad de plagas además de poseer un efecto antiviral, lo que la hace una tentadora opción de control biológico alternativa por sus efectos bactericida, nemacida y fungicida (Saldívar, 2003).

Tabla 1. Ejemplos de plantas, extractos o metabolitos que poseen actividad insecticida sobre ciertas especies de insectos.

PLANTA CON ACTIVIDAD INSECTICIDA	EXTRACTO O METABOLITO	INSECTO	REFERENCIA
<i>Acaciella angustissima</i>	Extracto hexánico	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Vanegas, 2019.
<i>Azadirachta indica</i>	- Anabasina - Azadiractina	<i>Spodoptera spp</i>	Ayil-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2018.
<i>Baccharis salicifolia</i> (Jara amarilla)	Extracto etanólico: - Flavonoides - Fenoles	<i>Anastrepha obliqua</i>	Palacios <i>et al.</i> , 2018; Nava-Pérez <i>et al.</i> , 2012
<i>Canavalia ensiformis</i>	- Aminoácidos - Antocianidinas - Poliurónidos	- <i>Nezara viridula</i> , - <i>Dysdercus peruvianus</i> - <i>Rhodnius prolixus</i>	Castiglioni <i>et al.</i> , 2002; Nava-Pérez <i>et al.</i> , 2012.
<i>Citrullus colocynthis</i>	- 2-metilquinolina - 8-hidroxiquinolina	<i>Sitophilus zeamais</i>	Ahmed <i>et al.</i> , 2020.
<i>Datura metel</i>	Extracto etil acetato (fitol y timol)	<i>Callosobruchus maculatus</i>	Adesina, 2022.
<i>Heterotheca inuloides</i> (Árnica mexicana).	Sesquiterpenoides: - Cadinano - Triterpenos - Fitoesteroles - Flavonoides	-Ácaro <i>Varroa jacobsoni</i> - <i>Spodoptera litura</i> - <i>Pseudoplusia includens</i>	Egas <i>et al.</i> , 2018.

<i>Melinis minutiflora</i>	Extracto hexánico	<i>Stomoxys calcitrans</i>	Tobón, 2011.
<i>Parthenium hysterophorus</i> (escoba amarga)	- Alcaloides - Terpenos	- <i>Spodoptera frugiperda</i> - <i>Aedes aegypti</i> L	Celio-López, 2021.
<i>Tagetes erecta</i> (flor de muerto)	- Tiofenos - Fenoles. - Flavonoides. - Cumarinas.	<i>Tribolium castaneum</i>	Nikkon <i>et al.</i> , 2009; Nava-Pérez <i>et al.</i> , 2012.
<i>Tagetes filifolia</i>	Aceite esencial: - Anetol. - Estragol.	<i>Pagiocerus frontalis</i>	Torres <i>et al.</i> , 2021.
<i>Tagetes minuta</i> (chinchilla)	- β-ocimeno. - Tagetenona.	<i>Callosobruchus maculatus</i>	Nenaah <i>et al.</i> , 2015.
<i>Tithonia diversifolia.</i>	Extracto metanólico: - Tagitinina A. - Tagitinina C.	- <i>Oothea mutabilis.</i> - <i>Epicauta albovittata.</i>	Mkenda <i>et al.</i> , 2015.
<i>Vernonia amigdalina.</i>	-11,13-dihidrovernodalina. - Vernodalina. - vernoniosida C.	- <i>Oothea bennigseni</i> - <i>Epicauta limbatipennis</i>	Mkenda <i>et al.</i> , 2015.

Algunos extractos elaborados a partir de cuatro especies de malas hierbas abundantes en el norte de Tanzania, *Tithonia diversifolia*, *Tephrosia vogelii*,

Vernonia amygdalina y *Lippia javanica*, ofrecieron un control eficaz de especies de plagas clave en plantas de judía común (*Phaseolus vulgaris*) mostrando efectividad en el control de los pulgones (*Aphis fabae*), el escarabajo de la judía (*Oothea mutabilis* y *O. bennigseni*) y el escarabajo de las flores (*Epicauta albovittata* y *E. limbatipennis*), por la presencia de compuestos insecticidas como lactonas sesquiterpénicas, alcanfor y la saponina vernoniosida C, entre otros componentes que han reportado actividad insecticida (Mkenda *et al.*, 2015).

En el presente trabajo utilizaremos tres plantas consideradas como maleza, *Melinis repens*, *Tagetes lucida*, *Chloris gayana*, debido a las características de las plantas pertenecientes a cada género se les busca dar un uso sustentable para la producción agrícola, en sospecha de que alguno de los metabolitos secundarios posea un efecto insecticida o bien modulador de resistencia a *Spodoptera frugiperda*. A continuación, se describen las plantas utilizadas en el presente trabajo.

5.9 *Tagetes lucida* Cav.

La selección de las especies vegetales a utilizar contra las plagas fitopatógenas depende de la diversidad y naturaleza de los metabolitos presentes en la planta o familia a estudiar. Diversos investigadores han realizado estudios acerca del efecto de las especies de *Tagetes* sobre fitopatógenos debido a la presencia de metabolitos secundarios con propiedades biocidas, entre ellos, compuestos derivados de tiofeno, terpenos, flavonoides, alcaloides, etc. (Thembo *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2012). En el género *Tagetes* existen aproximadamente 55 especies entre las que se destaca a *Tagetes lucida* Cav., la cual es una planta aromática nativa de México y Guatemala, se conoce comúnmente como pericón, hierba de anís, hierba de Santa María o en EUA como caléndula de menta mexicana. Es una planta erecta de hasta 80 cm de alto con varios tallos que nacen de la base, hojas simples de 2 a 10 cm de largo, cabezuelas en corimbos de 3 o 4 flores amarillas (Figura 8) (CONABIOS, 2017).

Tagetes lucida se considera como una hierba de maleza común que se utiliza medicinalmente para el tratamiento de la ansiedad por vía oral en infusiones o en extractos hidroalcohólicos (CONABIOS, 2017), en México se usa medicinalmente como infusión, también como insecticida y como planta ornamental. La infusión se usa como tónico, como remedio para la tos, dolores de cabeza, fiebres, cólicos, dolor abdominal, dolencias gastrointestinales, dolor de cuerpo, y para acelerar el parto (Bye, 1986). En Guatemala los extractos de esta planta se utilizan para dolores de estómago, gastritis, dolores y se venden en forma de infusión, tintura y elixir (Ciccio, 2004).

En *T. lucida* se han identificado 30 componentes de los cuales el mayor componente fue el metil-chavicol y del aceite de la flor, dos bitienilos fueron detectados como componentes menores (Ciccio, 2004). Dentro de los metabolitos secundarios constituyentes del aceite esencial *T. lucida* se identificaron 16 monoterpenos y fenilpropanoides: β -pineno, β -felandreno, β -z-ocimeno, β -e-ocimeno, linalol, estragol, geraniol, α -copaeno, metil eugenol, cariofileno, humuleno, germacreno d, biciclo germacreno, α -farneseno, δ -cadineno, ϵ -nerolidol (Torres-Martínez *et al.*, 2022).

Un análisis de un extracto cloroformo/metanol de *T. lucida* se identificó siete cumarinas y tres flavonoides los cuales fueron: 8-dihidroxicumarina, umbeliferona, escoparona, esculetina, 6-hidroxi-7-metoxicumarina, herniarina, escopoletina, patuletina, quercetina y quercetagetina (Céspedes *et al.*, 2006)

Algunos estudios farmacológicos de las flores de *T. lucida* han reportado que poseen efectos antibacterianos, insecticidas, citotóxicos, efectos antioxidantes y antidepresivos (Guadarrama-Cruz *et al.*, 2012). Diversos estudios acerca de las actividades que posee *T. lucida* en extractos acuosos de las partes de la planta demostraron que poseen actividad antibacterial, antimicrobiana, antioxidante, nematocida (Omer *et al.*, 2015).

Investigaciones realizadas han demostrado que *T. lucida* posee actividad antimicrobiana y antibacteriana, además de fungir como modulador de resistencia a antibióticos de bacterias patógenas como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas*

aeruginosa, por la presencia de cuatro metabolitos secundarios presentes en un aceite esencial de la planta, tales componentes son metil eugenol, estragol, linalol y geraniol (Torres-Martínez *et al.*, 2022).

La investigación del extracto etil estérico de *T. lucida* mostro actividad antibacterial sobre *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* (Hernández *et al.*, 2006), los extractos de metanol-cloroformo y los extractos de acetato de etilo de *T. lucida* tenían una pronunciada actividad antifúngica (Damián-Badillo *et al.*, 2008).

Dentro de los efectos que posee la planta presenta la capacidad antioxidante debido a la presencia de un gran número de carotenoides: luteína, zeaxantina, anteraxantina y neoxantina, que fueron estudiados en un extracto acetónico de linula y callo de *T. lucida* (Rocha, 2003). La presencia de algunas cumarinas que fueron evaluadas mostró que la actividad fungicida de las 6,7dimetoxi-4-metilcumarina y escoparona (6,7-dimetoxicumarina), tuvieron mayor potencial fungicida, seguido de la herniarina (7-metoxicumarina) con una potencia significativamente menor frente a *R. solani*, *F. sporotrichum*, *F. monoliforme*, *A. niger* y *T. mentagrophytes* (Céspedes *et al.*, 2006).



Figura 8. Planta de *Tagetes lucida* en etapa de floración (Imagen tomada de White-Olascoaga *et al.*, 2018).

5.10 *Melinis repens* Willd.

El pasto rosado *Melinis repens* es una gramínea originaria de África que se considera como una especie invasora de diversos ecosistemas y en México es de las especies que se encuentran reportadas en todos los espacios (Melgoza *et al.*, 2014). Es un pasto anual o plurianual el cual puede llegar a medir hasta 1 m de altura, cespitosa, cañas ascendentes, enraizante en los nudos inferiores; hojas lineales, planas, nudos y vainas con pubescencia, lígula ciliada, lámina glabra o algo pilosa de 6 a 20 cm de longitud por menos de 1 cm de anchura (Dávalos, 2017) posee una inflorescencia al principio rosada luego se torna ligeramente plateada (a la madurez), la espiguilla está cubierta por largos pelos sedosos (Figura 9). Florece desde la primavera hasta el otoño es muy común e invasora en suelos altos, arenosos y rojos (Dávalos, 2017). Se ha estudiado que esta dominancia que le permite desarrollarse con facilidad podría estar relacionada a la presencia de metabolitos secundarios que poseen efecto alelopático, es decir, que inhibe el crecimiento de otras especies (Novoa *et al.*, 2012); por lo que inhibe la germinación, crecimiento o reproducción de otras plantas, así también indirectamente afecta a microorganismos e insectos que habitan en el suelo (Callaway y Ridenour, 2004).



Figura 9. Planta del pasto rosado *Melinis repens*. A) matorral y B) flores color rosáceas características de la planta (Modificado de Bingham *et al.*, 2022).

5.11 *Chloris gayana* Kunth.

El género *Chloris* pertenece a la familia *Poaceae*, subfamilia *Chloridoideae*, y está conformado por unas 40 especies, ampliamente distribuidas en regiones tropicales y subtropicales. El género es poco conocido y sus especies se utilizan principalmente como forraje y se caracterizan por ser conocidas como hierbas malas o plantas maleza, sin embargo también poseen usos positivos tales como usos alimentarios, medicinales, para evitar la erosión, forrajeras, apícolas, pioneras y fijadoras de nitrógeno, etc., entre las especies pertenecientes a este género se encuentran: *Chloris pycnothrix*, *Chloris grandiflora*, *Chloris barbata*, *Chloris polydactyla* y principalmente *Chloris gayana* (Schneider, 2007; Maciel *et al.*, 2013).

La hierba pata de gallo *Chloris gayana* es una Herbácea perenne, cespitosa, con estolones de 1 m de longitud, caña comprimida, robusta de hasta 1,2 m de altura; nudos oscuros. Hojas lineales largas, zona lígular ciliada, lámina con duplicada hasta de 40 cm de largo, áspera al tacto (Figura 10) (Dávalos, 2017).

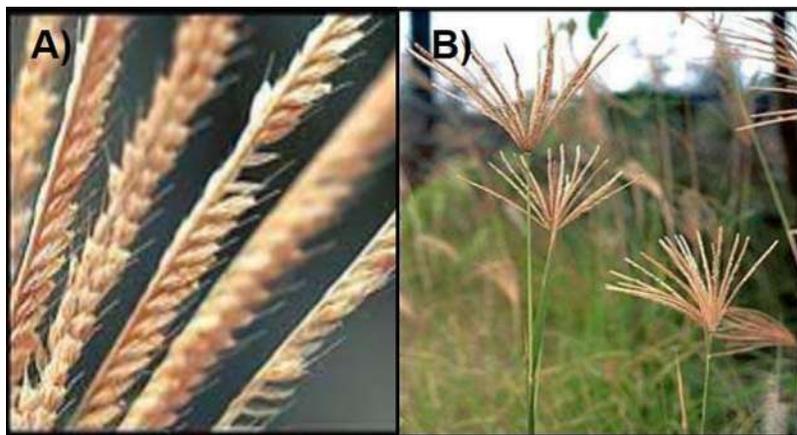


Figura 10. Planta de *Chloris gayana*. A) Espiguillas unilaterales de la planta y B) matorral de *C. gayana* en un entorno silvestre (Imagen modificada de Batista, 2015).

Sus nombres populares varían de una región a otra y suele llamarse de diversas maneras tales como: hierba pata de gallina, hierba de Rodas, hierba cebolla, hierba fina, hierba azul, entre otros (Schneider, 2007). Son cañas floríferas delgadas, con

9 a 24 espigas agrupadas en racimos en el ápice, rectas o algo flexuosas, de 5 a 12 cm de longitud, color pajizo-violáceo (Figura 10B). Las espiguillas se disponen unilateralmente a lo largo del raquis (Figura 10A). Glumas persistentes, antecios con el borde del lema fértil con cilios blancos. Es buena forrajera e invasora muy frecuente (Dávalos, 2017). *Chloris gayana* es una planta con potencial de aplicación terapéutica, debido a la presencia de importantes clases de metabolitos secundarios identificados en un extracto bruto etanólico, como alcaloides, triterpenos, esteroides, flavonoides y taninos (Oliveira, 2014).

6. JUSTIFICACIÓN

Históricamente el manejo de plagas agrícolas se ha llevado a cabo con productos sintéticos como organofosforados y organoclorados, que en un principio ofrecían buenos resultados, ya que eliminaban de manera eficaz a los insectos plaga. Sin embargo, con el paso del tiempo, representaron graves problemas de contaminación de aguas, suelos y alto grado de toxicidad para los mamíferos, incluyendo humanos. Aunado a esto, los insectos comenzaron a crear resistencia y la eficacia de dichos productos se ha visto disminuida.

Una alternativa al uso de compuestos sintéticos es la búsqueda y aplicación de insecticidas de origen natural o bio-plaguicidas, para la protección de plantas y semillas. Este grupo importante de compuestos de origen natural, la mayoría de las veces resultan más seguros para los humanos y para el medio ambiente que los plaguicidas sintéticos, con un mínimo efecto residual. Los bio-plaguicidas botánicos pueden incluir productos derivados o compuestos puros, los cuáles pueden interferir en el crecimiento, alimentación o reproducción de plagas o pueden ser utilizadas como semioquímicos para repeler, monitorear o atraer insectos para eliminarlos.

Sin embargo, la aplicación de estos compuestos (o sus derivados semi-sintéticos) ha generado la evolución de la resistencia de los organismos blanco (insectos plaga). Esta resistencia se ha visto en aumento de manera alarmante, ya que cada vez es más difícil la erradicación de insectos plaga, resistentes a los insecticidas que antes eran útiles para combatirlos.

Bajo este panorama, es de vital importancia buscar alternativas de manejo sustentable, basadas en el conocimiento de la producción, efectividad, modo de acción, blancos potenciales, y toxicidad potencial de los metabolitos secundarios (MS) con actividad repelente o insecticida. Lo anterior nos lleva al reto de explorar MS que actúen como plaguicidas, o modulen la resistencia desarrollada por los insectos.

7. HIPÓTESIS

Los extractos de las plantas *Tagetes lucida*, *Melinis repens* y *Chloris gayana*, contienen metabolitos secundarios que presentan un efecto insecticida o modulan la resistencia al insecticida piretroide cipermetrina en *Spodoptera frugiperda*.

8. OBJETIVOS

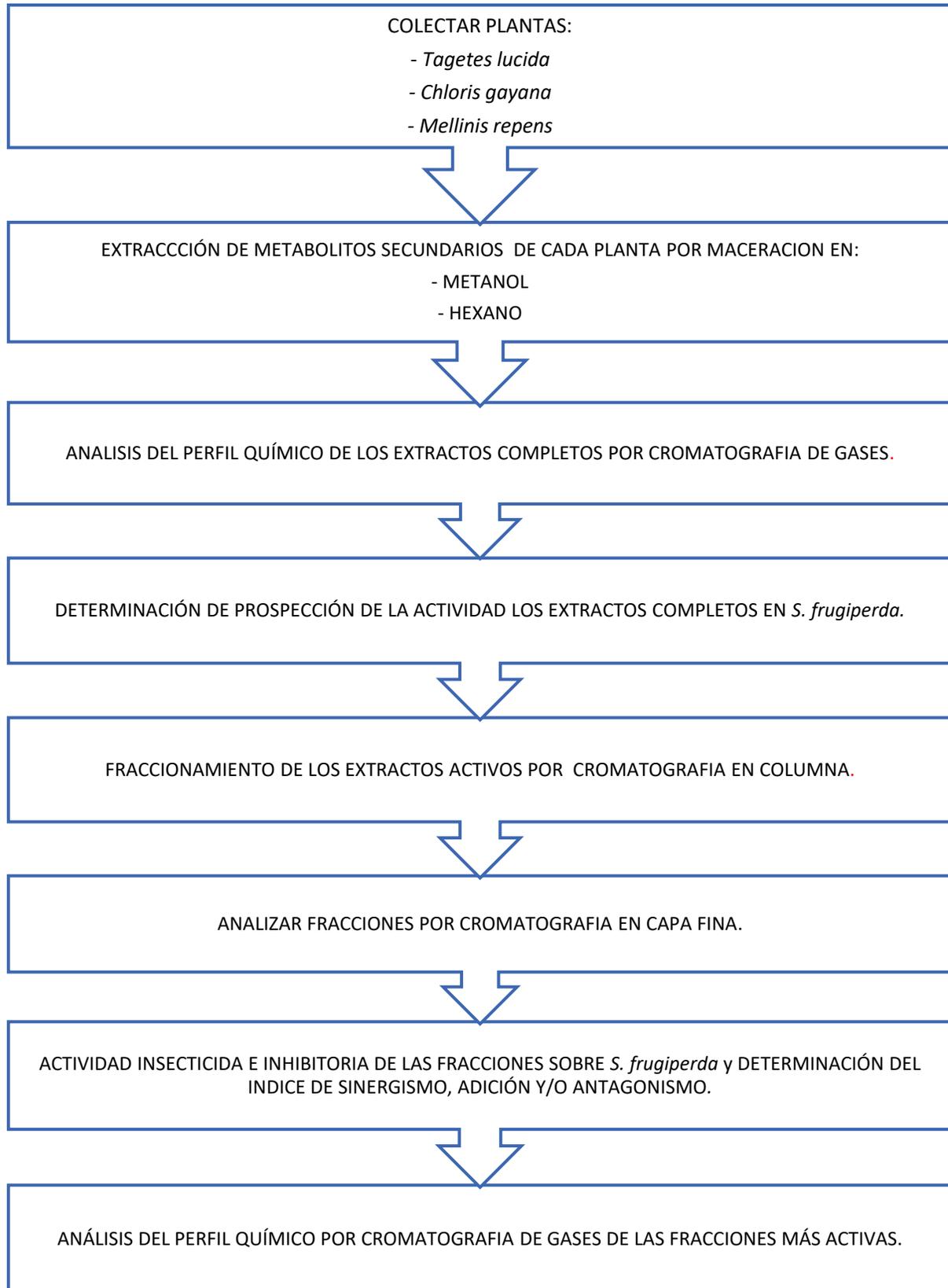
8.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si los extractos de *Tagetes lucida*, *Melinis repens* y *Chloris gayana* tienen actividad bio-insecticida y/o moduladora de resistencia a insecticidas en gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).

8.2 OBJETIVOS EPECIFICOS

1. Realizar la prospección del efecto bio-insecticidas y como inhibidores de la resistencia a insecticidas, de los extractos metanólicos y hexánicos de *Tagetes lucida*, *Melinis repens* y *Chloris gayana* en larvas de *Spodoptera frugiperda*.
2. Determinación del efecto bio-insecticidas y como inhibidores de la resistencia a insecticidas en larvas de *Spodoptera frugiperda*, de las fracciones de los extractos activos de *Tagetes lucida*, *Melinis repens* y *Chloris gayana*.

9. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



10. MATERIALES Y MÉTODOS

10.1 Colecta del material vegetal

La colecta de las plantas se realizó en los meses de agosto y septiembre del 2020. *Tagetes lucida* se colectó en septiembre del 2020 en Uruapilla (19°31'19,31 N" 101°16'48,84" W), perteneciente al estado de Michoacán. La planta se colectó fresca (flor, hoja y tallo), 20 kilogramos aproximadamente y fue llevada al laboratorio para la obtención de sus extractos por maceración. Se preparó un ejemplar que se depositó en el herbario de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, con número de registro del herbario 27487.

Choris gayana y *Melinis repens* se colectaron en el mes de agosto del 2020, en las instalaciones de la UNAM campus Morelia, Michoacán en las coordenadas (19° 38' 57" N, 101°13' 37.9" W), aproximadamente 10 kilogramos de cada planta, las cuales se colocaron en bolsas de plástico que fueron llevadas al laboratorio para la obtención del extracto mediante maceración. Se preparó un ejemplar de cada planta, que se depositó en el herbario de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, con número de registro en el herbario 27487. Las tres plantas en su localidad se observan en la figura 11.

10.2 Extracción por maceración con disolvente

Las plantas de *Tagetes lucida*, *Melinis repens* y *Chloris gayana*, se colocarán de forma individual dentro de frascos de cristal ámbar de 4 litros, siendo un aproximado de 2.5 kilogramos de planta en cada frasco, agregando 2.5 litros de hexano y dejando macerar por 2 semanas con agitación del contenido del frasco diariamente. Posteriormente los extractos se filtraron y la parte líquida (extracto) se concentró bajo presión reducida en rotavapor. A la planta que quedó en el frasco libre de hexano, se le agregó 2.5 litros de metanol. Se dejó macerar por 2 semanas, se filtraron y concentraron nuevamente en rotavapor. De esta forma obtuvimos dos extractos de cada planta, hexánicos y metanólicos (Figura 12). Los extractos fueron almacenados en frascos ámbar a 4 °C para después utilizarlos en los diferentes ensayos.



Figura 11. Plantas localizadas en su estado silvestre; A) *Tagetes lucida*, B) *Chloris gayana* y C) *Melinis repens*.

10.3. Análisis químico de los extractos metanólicos y hexánicos de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*.

La identificación de los compuestos químicos se realizó por Cromatografía de gases-Espectrometría de gases (CG-EM), al realizar una inyección en el cromatógrafo de gases Agilent 6890 acoplado a un Detector Selectivo de Masas Agilent 5973, con el método reportado por Torres-Martínez *et al.*, 2014. Se inyectaron 2 μL de cada muestra con división de flujo (50:1) a una temperatura de 250°C con helio como gas acarreador con un flujo en columna de 1 mL/min en una

columna no polar HP5 Agilent (30m x 0.25 mm x 0.25 μ m). El programa de la temperatura en el horno se inicia a 50°C por 5 minutos, aumentando a 5°C/min hasta 280°C, seguido de un incremento de 25°C/min hasta 300°C y mantenerse por 3 minutos.

Las condiciones usadas en el detector selectivo de masas son: voltaje de ionización por impacto electrónico a 69.9 eV; temperatura de la interfaz a 280°C, modo FULL SCAN y en un rango de masas de 35-550m/z. La señal del detector fue procesada en el programa Enviromental ChemStation (Agilent Technologies) para identificar los compuestos analizados comparándolos con la Biblioteca Nacional Institute of Standards and Technology (NIST05). Aceptamos solo la identificación de los espectros que concuerden por arriba del 90% y su pureza de pico sea de 1 compuesto. Los compuestos mayoritarios se identificaron por inyección de estándares comerciales (Sigma-Aldrich). Para la identificación de compuestos también se calcularon los índices Kovats, inyectando 1 μ L de una serie de alcanos C₈ -C₂₀ (Sigma-Aldrich) en el cromatógrafo de gases, en las mismas condiciones en las que se analizaron las muestras.



Figura 12. Maceración en diferentes solventes para las plantas de A) *Melinis repens* y B) *Chloris gayana*.

10.4 Fraccionamiento de los extractos hexánico y metanólico por cromatografía líquida en columna.

El fraccionamiento de los extractos hexánicos y metanólico de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana*, se realizó siguiendo la metodología reportada por Fulgencio-Negrete, (2013). Brevemente, se preparó una columna de fraccionamiento empacada con silica-gel (60 Å, 63-200µm) en una bureta (50 cm largo x 1 cm de diámetro) a la cual se le agregó una solución de cloroformo-metanol en proporción 2:1 como fase móvil. Posteriormente se agregó 10 g de extracto disuelto en metanol en proporción a 1:1 y se dejó eluir por toda la columna separando el extracto según la polaridad de sus componentes; se colectaron fracciones de 10 mL en matraces de tamaño pequeño, obteniéndose fracciones de los extractos metanólicos (Figura 13 A) y hexánicos (Figura 13 B) por separado.



Figura 13. Fraccionamiento por cromatografía en columna de los extractos metanólicos (A) y hexánicos (B) de *Tagetes lucida*.

10.5 Análisis por cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas de los extractos.

Las fracciones obtenidas se dejaron secar en la campana de extracción de 24 a 48 horas para posteriormente resuspender en 3 mL de metanol y almacenarse en frascos ámbar rotulados con su nombre correspondiente. Después fueron analizados por cromatografía en capa fina (CCF) en una cámara cromatográfica utilizando una placa de sílica gel (TLC Silica gel 60 F254, Merck®) como fase estacionaria, a la cual cuidadosamente se colocaron 5 µL de las muestras de las fracciones y se introdujo a la cámara con una solución móvil de cloroformo: metanol: acetato de etilo en proporción 60:40:1. Las placas desarrolladas se observaron bajo luz ultravioleta en una cámara revelación de las placas se realizó en Spectroline® modelo CX-20, en onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm) y con solución 0.1 N de sulfato cérico para observar las señales más representativas de los compuestos separados.

10.6 Mantenimiento de la cría de *Spodoptera frugiperda* para la realización de los bioensayos.

A partir de los individuos que se tenían establecidos en el laboratorio, se procedió a realizar el mantenimiento a la cría de *Spodoptera frugiperda* para obtener los diferentes estadios larvarios necesarios en las diferentes evaluaciones a realizarse con el gusano cogollero siguiendo las indicaciones descritas por Sierra-Ruíz *et al.*, 2022.

A continuación, se describen las fases del mantenimiento de la cría de *Spodoptera frugiperda*:

Preparación de dieta. El desarrollo de un método de preparación de una dieta artificial permitió cultivar insectos de forma práctica y simple; cumpliendo con los requisitos nutricionales mínimos del insecto y también siendo económicamente viables (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

Limpieza y alimentación de larvas. Las larvas de primer, segundo, tercer, cuarto y quinto instar se colocaron en recipientes herméticos de plástico limpio, con trozos de dieta fresca distribuida uniformemente (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

Individualización de larvas. Una vez que las larvas alcanzan el sexto instar disminuyen su ingesta de alimento y su color comienza a cambiar a un verde con tono plomizo, lo que indica que las larvas entraron a la fase de prepupa y por lo que se procedió a individualizar en vasos pequeños desechables (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

Colecta de Pupas. Después de 8-10 días de haber individualizado las larvas, se revisaron los vasos de plástico y se procedió a coleccionar las pupas (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

Nuevos ponederos. De los recipientes en los que se guardaron las pupas, y que estas avanzaron a su siguiente etapa de palomilla, con pinzas entomológicas se traspasaron un aproximados de 20 individuos a una bolsa de papel estraza con botes de miel, para etiquetarlos con la fecha en que se estableció el ponedero (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

Cambio de ponederos

En el cambio de ponedero de las bolsas de papel estraza, después de refrigerarla a 15 °C durante 3-5 min, se abrió la bolsa con mucho cuidado para evitar que escapen las palomillas. Se retiraron los vasos con miel cuidadosamente, y traspasar las polillas a otra bolsa nueva con vasos de miel fresca. Estos ponederos se cambiaron tres veces por semana (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

Colecta de huevos

De los ponederos se recortaron los pedazos de papel donde estaban adheridos los huevos. Los trozos de papel se pegaron con cinta en una hoja de papel, y la hoja se colocó en la tapa del recipiente limpio, al cual se le agregó trozos de dieta y se registró la fecha de inicio de la incubación (Sierra-Ruíz *et al.*, 2022).

10.7 Bioensayo de toxicidad por contacto en *Spodoptera frugiperda*.

La actividad insecticida de los diferentes tratamientos se midió aplicando los protocolos experimentales establecidos previamente en el laboratorio. El método utilizado para determinar el efecto insecticida fue el de toxicidad por contacto sobre las larvas instar 3 (L3) de *Spodoptera frugiperda*. Este bioensayo nos permite observar si la aplicación de los diferentes tratamientos provoca la muerte de los organismos a corto plazo (24 horas).

El experimento consiste en aplicar un microlitro de tratamiento a cada larva para lo cual se emplean jeringas o micropipetas calibradas, lo cual nos garantiza que a cada animal se le aplique la misma cantidad del tratamiento en cuestión. Cada repetición consistió en 10 larvas por caja Petri, con un total de cuatro réplicas por tratamiento. Los tratamientos se prepararon con los extractos de las plantas de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens* en diferentes concentraciones.

Posteriormente se deja evaporar el disolvente y se coloca dieta artificial en la caja Petri para que las larvas se alimenten. La cantidad de larvas muertas a las 24 horas, se determina al cepillar suavemente a las larvas con un pincel fino, las larvas que no muestran movimiento son consideradas como muertas. Con los resultados se calcula la DL_{50} (Akhtar *et al.*, 2008).

10.8 Determinación de la actividad moduladora de la resistencia a cipermetrina de los extractos y fracciones en *Spodoptera frugiperda*.

La curva de dosis respuesta a cipermetrina se realizó para la determinación de la DL_{50} replicando la misma metodología de toxicidad por contacto, donde se aplicaron siete tratamientos de cipermetrina, los cuales fueron: 0.00125, 0.005, 0.01, 0.03, 0.06, 0.12 y 0.24 $\mu\text{g/mL}$.

De igual manera por el método de toxicidad por contacto se determinó la actividad moduladora de la resistencia a cipermetrina, donde la DL_{50} de cipermetrina se combinó con las diferentes concentraciones de los extractos de las plantas *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*, y de igual forma se realizó para las fracciones obtenidas de los dos tipos de extractos (metanólicos y hexánicos).

10.9 Cálculo de índices de sinergismo, adición o antagonismo de los extractos y fracciones.

Los cálculos de los índices de sinergismos, adición o antagonismo se realizaron utilizando el criterio independiente de Bliss y el modelo aditivo de Loewe, ya que son los modelos más utilizados para estudiar los efectos combinados de sustancias *in vivo* e *in vitro* (Greco *et al.*, 1992). A continuación, se indica la fórmula utilizada:

$$E(x, y, z) = E(x) + E(y) + E(z) - E(x) * E(y) - E(x) * E(z) - E(y) * E(z) - E(x) * E(y) * E(z).$$

Dónde: E es el índice calculado de sinergismo, adición o antagonismo del efecto de mortalidad de los distintos tratamientos. X es el efecto de la concentración de la cipermetrina_{DL50}; Y es el efecto de la concentración del extracto o fracción hexánica o metanólica en individual, y Z es el efecto de la concentración del extracto o fracción en combinación con cipermetrina_{DL50}.

10.10 Análisis estadístico

Los datos se presentan como el porcentaje de mortalidad de las larvas de *S. frugiperda*, en comparación con el control negativo. Se realizaron tres experimentos independientes, cada uno con n= 5. El análisis de las diferencias entre los valores medios \pm desviaciones estándar obtenidos para los grupos experimentales se realizó mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía y prueba de Tukey; los datos cumplían los supuestos de normalidad y homocedasticidad necesarios para realizar ANOVA (Software JMP8, Statistical Analysis System y SAS, 2008). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a $P \leq 0.05$.

11. RESULTADOS

11.1 Extractos de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens* obtenidos por maceración.

De las tres plantas colectadas: *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*, se obtuvieron en total 6 extractos, de los cuales tres fueron hexánicos y tres metanólicos. El rendimiento de los extractos fue variable obteniéndose entre 11 y 25 gramos de extracto crudo. En la tabla 2 se muestra el rendimiento específico para cada extracto.

Tabla 2. Rendimiento de los extractos de las tres plantas colectadas.

Planta	Tipo de extracto	Rendimiento (g/Kg)
<i>Tagetes lucida</i>	Hexánico	19.65
	Metanólico	25.16
<i>Chloris gayana</i>	Hexánico	11.98
	Metanólico	18.58
<i>Melinis repens</i>	Hexánico	16.42
	Metanólico	22.53

Los extractos fueron preparados con metanol como disolvente en diferentes concentraciones para analizar la actividad insecticida en larvas L3 de *Spodoptera frugiperda*, y de igual manera se determinó la modulación de la resistencia a cipermetrina.

11.2 Determinación del efecto insecticida y modulación de la resistencia a cipermetrina de los extractos crudos de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*.

Los bioensayos por el método de toxicidad por contacto se iniciaron realizando una curva dosis-respuesta a cipermetrina para determinar la DL₅₀ de dicho insecticida.

Los datos de mortalidad se registraron a las 24 horas de la aplicación de la cipermetrina.

Los bioensayos con cipermetrina mostraron que en concentración de 0.01 $\mu\text{g/mL}$ hubo mortalidad del 25% de las larvas de *S. frugiperda*, y la mortalidad aumentó a 95% con 0.24 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 14). La DL_{50} se determinó con el programa PoloPlus, encontrando que la concentración de 0.03 $\mu\text{g/mL}$ causó 50% de la mortalidad de las larvas.

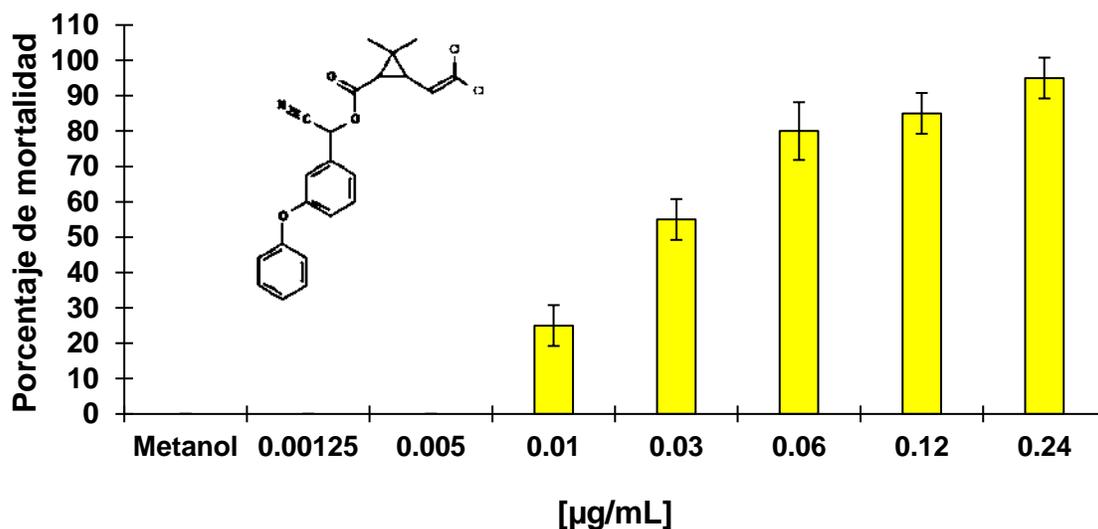


Figura 14. Curva control de cipermetrina sobre *Spodoptera frugiperda*.

El resultado obtenido de DL_{50} para cipermetrina (0.03 $\mu\text{g/mL}$) se utilizó para realizar la combinación con las diferentes concentraciones de los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*, y así determinar la modulación de la resistencia a cipermetrina.

El efecto observado de los extractos crudos de *Tagetes lucida* sobre las larvas de *S. frugiperda* fue el siguiente: se encontró que el extracto hexánico (EHTL) a 62.5 $\mu\text{g/mL}$ causó mortalidad del 25% de las larvas; mientras que en combinación con cipermetrina DL_{50} , la mortalidad aumentó al 92.5% (Figura 15a). Por su parte, el extracto metanólico de *T. lucida* (EMTL) en 187.5 $\mu\text{g/mL}$ mató al 70% de larvas; y en combinación con cipermetrina DL_{50} , la mortalidad aumentó al 95% (Figura 15b).

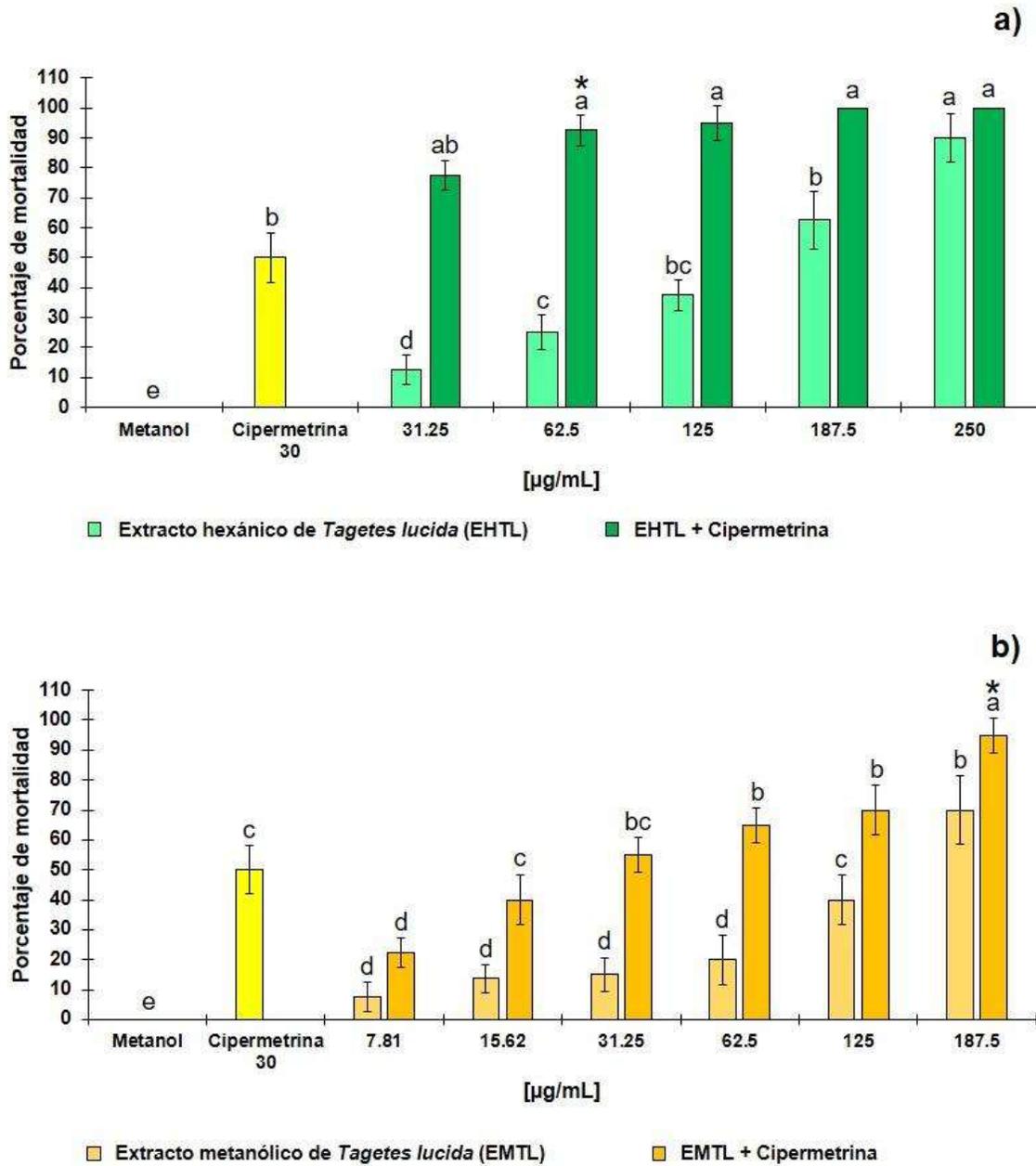


Figura 15. Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina del extracto hexánico (a) y metanólico (b) de *Tagetes lucida* en *S. frugiperda*.

En el caso de los extractos de *Chloris gayana*; el extracto hexánico (EHCG) en 333 µg/mL causó mortalidad de 17.5%, y en combinación con cipermetrina_{DL50}, alcanzó el 97.5% (Figura 16a). El extracto metanólico de *C. gayana* (EMCG) en 437.5 µg/mL,

causo mortalidad del 15% y en combinación con cipermetrina_{DL50} alcanzó 47.5% (Figura 16b).

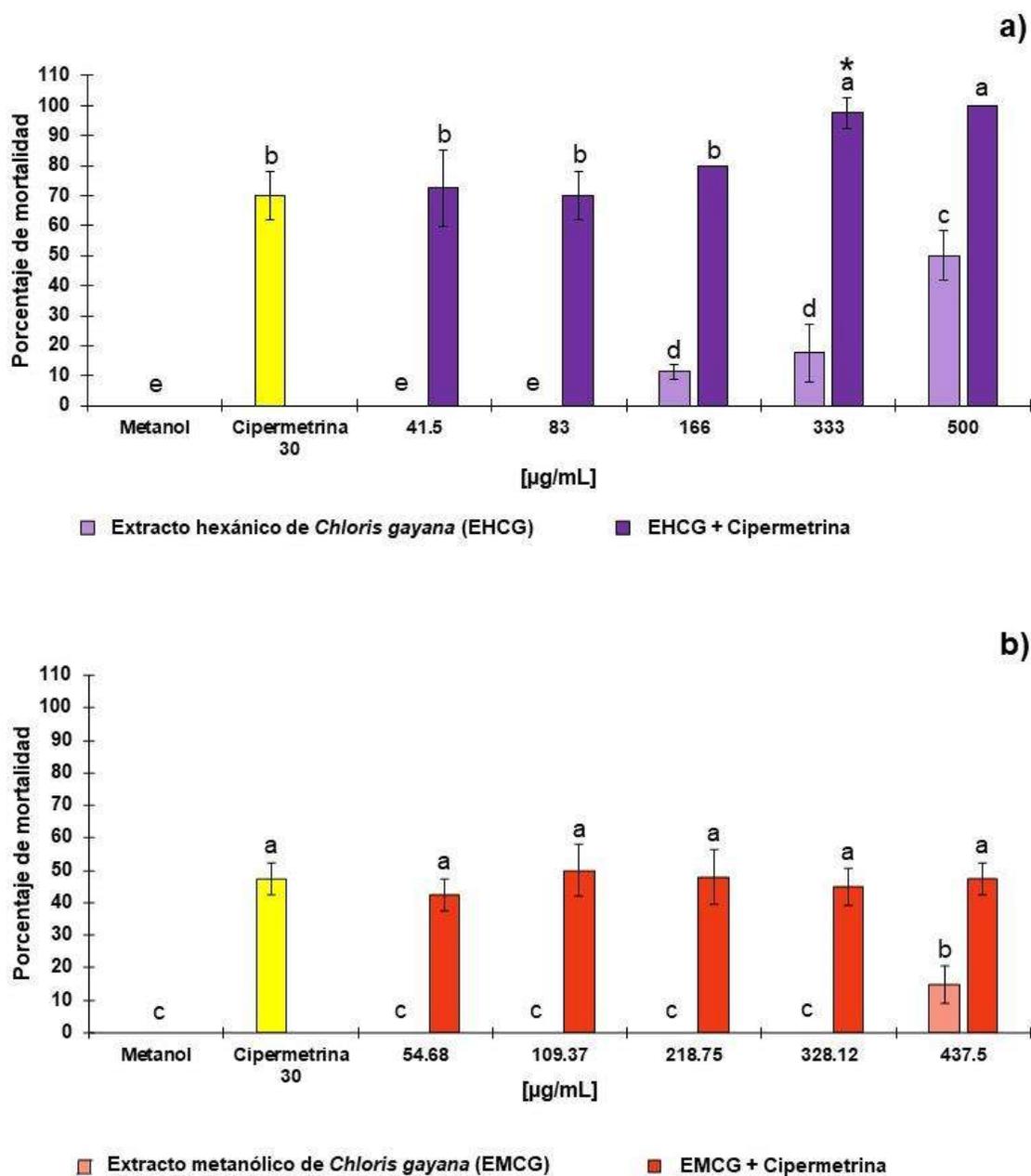


Figura 16. Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina del extracto hexánico (a) y metanólico (b) de *Chloris gayana* en *S. frugiperda*.

De los extractos de *Melinis repens*, el extracto hexánico (EHMR) a 2600 µg/mL causó mortalidad de 43.3%; y aumentó su mortalidad al 80% al combinarse con

cipermetrina_{DL50}, (Figura 17a). Para el extracto metanólico (EMMR), la concentración de 975 µg/mL causó mortalidad de 33.3%, y al combinarse con cipermetrina_{DL50} aumentó al 80% (Figura 17b).

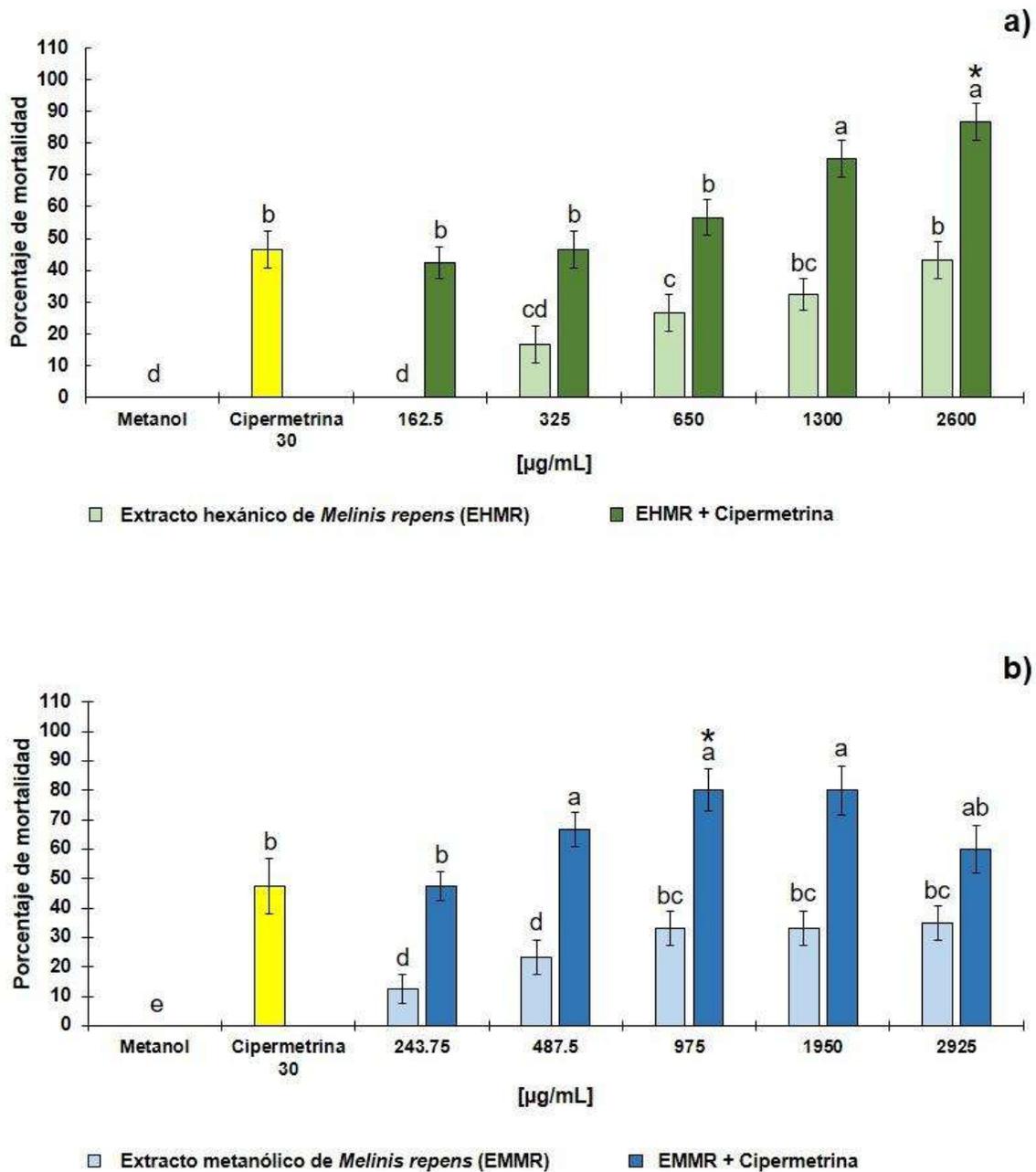


Figura 17. Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina del extracto hexánico (a) y metanólico (b) de *Melinis repens* en *S. frugiperda*.

En cuanto a las interacciones de los extractos que fueron combinados con cipermetrina_{DL50} los resultados muestran que, en base a la mortalidad, hay un efecto sinérgico en las concentraciones que tuvieron mayor mortalidad, señaladas con un asterisco (*) en las figuras 15, 16 y 17. Para ambos extractos tanto hexánico como metanólico se muestran resultados sinérgicos, los cuales se indican en la tabla 3.

Tabla 3. Índices de sinergismo, adición y/o antagonismo de los extractos metanólicos y hexánicos de las plantas *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens* en combinación con cipermetrina_{DL50}.

Planta	Tipo de extracto	Concentración de extracto (µg/mL)	Factor de interacción	
<i>Tagetes lucida</i>	Hexánico	62.5	0.68	S
	Metanólico	187.5	0.6908	S
<i>Chloris gayana</i>	Hexánico	62.5	0.3294	S
	Metanólico	437.5	0.1395	S
<i>Melinis repens</i>	Hexánico	2600	0.0494	S
	Metanólico	437.5	0.1133	S

Interpretación; si el factor de interacción es menor a 1 indica un efecto sinérgico (S), si es igual a 1 es efecto aditivo (AD) y si es mayor a 1 significa que es efecto antagónico (AN).

11.3 Composición química de los extractos de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*.

La identificación y cuantificación de los compuestos presentes en los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*, se realizó por Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de masas (CG-EM).

La composición de los extractos analizados fue dependiente de la planta y tipo de extracto (hexánico o metanólico), en su mayoría presentan una composición de compuestos de tipo monoterpenos y fenilpropanoides, además de ácidos grasos, entre otros.

Los compuestos identificados en *T. lucida* se muestran en la tabla 4 (extracto hexánico) y tabla 5 (extracto metanólico). Ambos extractos presentan similitudes en la presencia de algunos compuestos identificados, como es el caso de metil eugenol, herniarina, escoparona y ϵ -nerolidol.

Tabla 4. Identificación de compuestos del extracto hexánico de *Tagetes lucida* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuesto	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
14.79	Estragol	1204	1194	4.64
19.38	Eugenol	1365	1373	2.54
20.04	Geranil acetato	1388	1383	1.87
20.68	Metil eugenol	1412	1403	10.39
24.79	ϵ -Nerolidol	1572	1561	2.98
29.03	Herniarina	1751	1732	44.84
33.69	Ácido palmítico	2035	1970	1.77
34.13	Escoparona	2046	2028	7.41
43.54	Octacosano	2711	2800	23.51

Tabla 5. Identificación de compuestos del extracto metanólico de *Tagetes lucida* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuesto	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
20.04	Geranil acetato	1388	1292	2.96
20.64	Metil eugenol	1411	1403	4.49
21.19	Cariofileno	1431	1464	1.90
22.02	(ϵ)- β -Fameseno	1463	1471	2.25
23.26	α -Muuroleno	1510	1505	2.43
23.86	δ -Cadineno	1534	1522	1.67
24.78	ϵ -Nerolidol	1571	1561	1.61
25.46	Oxido de cariofileno	1598	1593	6.12
26.74	Viridiflorol	1652	1590	3.74
28.88	Herniarina	1744	1732	27.76
32.94	Ácido palmítico	2016	1970	7.60
34.11	Escoparona	2046	2028	10.56
35.11	α -Espringeno	2070	2019	1.48
36.35	Ácido linolelaídico metil éster	2103	2101	7.34
36.49	Ácido α -linolénico	2110	2143	7.28
36.71	Fitol	2122	2122	5.23
36.92	Metil estearato	2133	2130	0.90
40.68	Escopoletina	2341	2305	3.56
43.95	Metil behenato	2537	2530	1.02

Los compuestos identificados en *Chloris gayana* se pueden observar en la tabla 6 (extracto hexánico) y tabla 7 (extracto metanólico). Los compuestos de tipo ácido grasos de cadena media estaban presentes en los dos tipos de extractos de *C. gayana*, donde el ácido palmítico, ácido linolénico y sus variantes esterificadas fueron los principales.

Tabla 6. Identificación de compuestos del extracto hexánico de *Chloris gayana* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuesto	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
18.2	p-Vinilguaiacol	1322	1315	4.95
33.31	Ácido palmitoleico	2026	1984	1.33
34.1	Ácido palmítico	2045	1970	23.80
34.39	Ácido palmítico etil éster	2052	1996	7.52
37.7	Ácido linolénico	2175	2143	44.29
37.85	Ácido linolénico etil éster	2183	2198	10.22
38.23	Ácido esteárico etil éster	2203	2194	2.58
46.76	Octacosano	2716	2800	3.91
49.51	Nonacosano	2882	2900	1.36

Tabla 7. Identificación de compuestos del extracto metanólico de *Chloris gayana* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuesto	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
13.08	Piranona	1147	1162	2.44
15.62	5-hidroximetilfurfural	1233	1226	6.05
18.13	p-Vinilguaiacol	1320	1315	1.25
24.65	Ácido dodecanoico	1566	1567	1.31
30.79	Ácido pentadecanoato	1829	1812	1.10
31.23	Hexahidrofarnesil acetona	1851	1838	2.12
32.94	Ácido palmítico metil éster	2016	1928	32.07
33.7	Ácido hexadecanoico	2035	1977	16.32
36.33	Ácido 8,11-octadecadienoico metil éster	2102	2112	11.83
36.47	Ácido linolénico metil éster	2109	2100	9.83
37.15	Ácido oleico	2145	2140	10.09
37.55	Ácido esteárico	2167	2177	2.15
40.16	Ácido eicosanoico metil éster	2310	2335	3.39

En las tablas 8 y 9 se muestran los compuestos identificados en el extracto hexánico y metanólico de *Melinis repens*, respectivamente. Los principales compuestos encontrados son de tipo ácido grasos de cadena media como ácido palmítico, ácido linolénico, ácido esteárico y sus varaintes esterificadas.

Tabla 8. Identificación de compuestos del extracto hexánico de *Melinis repens* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuesto	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
34.33	Ácido palmítico etil éster	2051	1978	8.63
37.48	Ácido linolénico	2163	2143	65.17
37.63	Ácido linoléico etil éster	2171	2165	6.34
37.77	Ácido linolénico etil éster	2179	2198	12.29
38.18	Ácido esteárico etil éster	2201	2194	7.54

Tabla 9. Identificación de compuestos del extracto metanólico de *Melinis repens* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuesto	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
32.93	Ácido palmítico metil éster	2016	1928	19.40
33.66	Ácido palmítico	2034	1970	9.41
34.32	Ácido palmítico etil éster	2051	1996	5.24
36.33	Ácido linoléico metil éster	2102	2094	23.65
36.47	Ácido linolénico metil éster	2109	2100	20.35
37.19	Linolenil alcohol	2148	2058	9.16
37.6	Ácido linoléico etil éster	2170	2165	7.19
37.74	Ácido linolénico etil éster	2177	2198	5.56

Con los resultados obtenidos y mostrados anteriormente, se procedió a realizar el fraccionamiento de los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana* con la finalidad de determinar su actividad insecticida y modulación de la resistencia a la cipermetrina. Cabe señalar que los extractos de *Melinis repens* no fueron fraccionados debido a que las concentraciones que presentaron actividad insecticida fueron muy altas y consideradas imprácticas para su uso potencial.

11.4 Fraccionamiento de los extractos de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana*.

Los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana* fueron fraccionados mediante cromatografía en columna, con una mezcla de disolventes de cloroformo-metanol en proporción 2:1. Tras la separación de los extractos en la columna, se obtuvo un número variable de fracciones para cada extracto, de 10 mL cada una. La fracción colectada en todos los casos y denominada F0, es el solvente inicial con la que se empacó la columna.

Para los extractos de *T. lucida*, se obtuvieron 9 fracciones del extracto hexánico (Figura 18 A) y 12 fracciones del extracto metanólico (Figura 18 B).



Figura 18. Fracciones del extracto hexánico (A) y metanólico (B) de *Tagetes lucida*.

Los rendimientos de las fracciones que fueron obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida* mediante fraccionamiento en cromatografía en columna, se muestran en la tabla 10, las fracciones F3 y F4 tuvieron el mayor rendimiento, en ambos tipos de extractos.

Tabla 10. Rendimiento de las fracciones obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida*.

Tipo de extracto	Fracción	Rendimiento (mg/g)
Extracto Hexánico de <i>Tagetes lucida</i> (EHTL)	EHTL F1	0.0095
	EHTL F2	15.1216
	EHTL F3	28.7362
	EHTL F4	19.8457
	EHTL F5	3.8125
	EHTL F6	0.4291
	EHTL F7	0.2731
	EHTL F8	0.0422
	EHTL F9	0.0062
Extracto Metanólico de <i>Tagetes lucida</i> (EMTL)	EMTL F1	0.0198
	EMTL F2	24.3961
	EMTL F3	36.2247
	EMTL F4	29.3452
	EMTL F5	14.2835
	EMTL F6	8.4213
	EMTL F7	6.9215
	EMTL F8	5.7845
	EMTL F9	4.2182
	EMTL F10	3.1825
	EMTL F11	1.9684
	EMTL F12	1.0428

Las fracciones colectadas de los extractos de *T. lucida* por cromatografía en columna, se analizaron por cromatografía en capa fina (CCF), donde se observó la separación de grupos de compuestos cuando se revelaron con luz UV. En las fracciones obtenidas del extracto hexánico de *T. lucida*, se encontraron señales en 4 de las fracciones (F2 a F5), donde F3 y F4 mostraron las señales más intensas de fluorescencia (Figura 19A). Mientras que el revelado con sulfato cérico 0.1 N, solamente se observan señales en F3 y F4 del extracto hexánico, indicando la presencia de compuestos tipo flavonoides (Figura 19B).

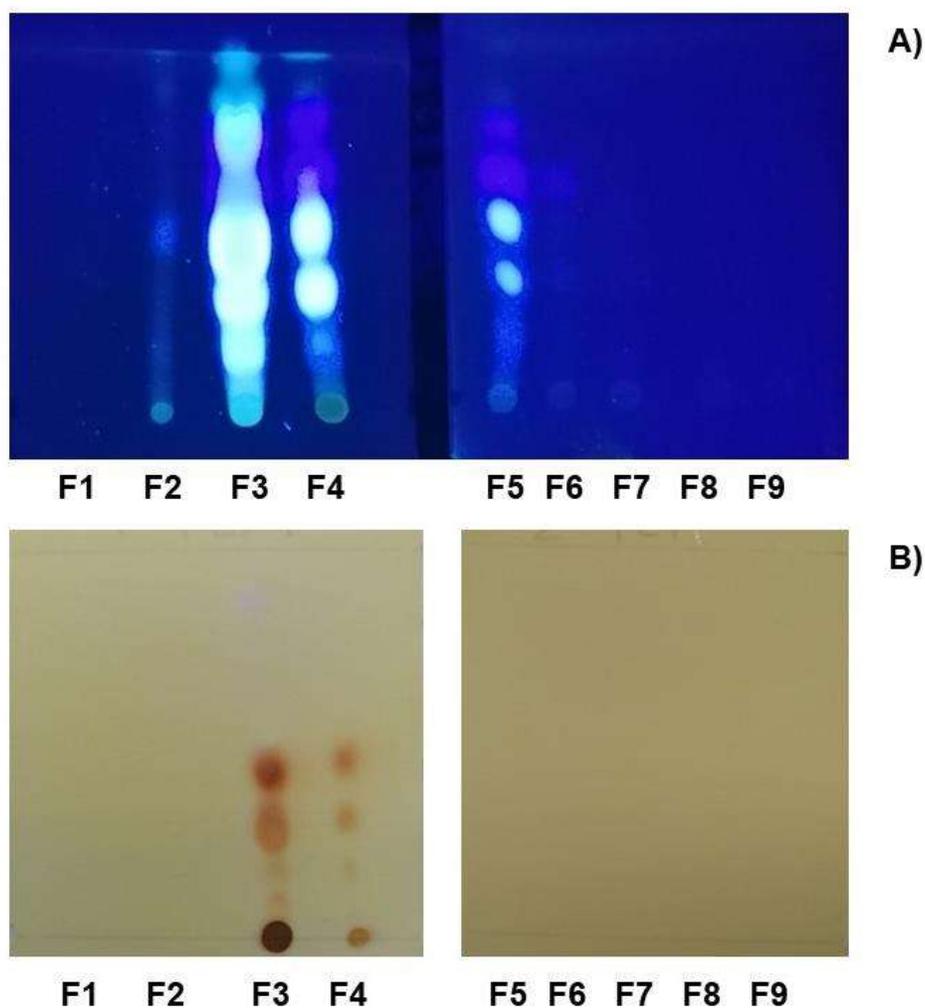


Figura 19. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto hexánico de *Tagetes lucida*, revelado con luz UV 254 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).

En cuanto a las fracciones del extracto metanólico de *T. lucida*, se observaron señales de compuestos en 7 de las fracciones (F2 a F8), siendo las fracciones F3, F4 y F5 las de mayor intensidad (Figura 20A). En el caso del revelado con sulfato cérico 0.1 N, se observaron señales en las fracciones F3 y F4, siendo las más intensas, lo que indicaría la presencia de compuestos tipo flavonoides (Figura 20B). No se observaron señales desde la fracción F6 a F12 para el revelado cérico (Figura 20B).

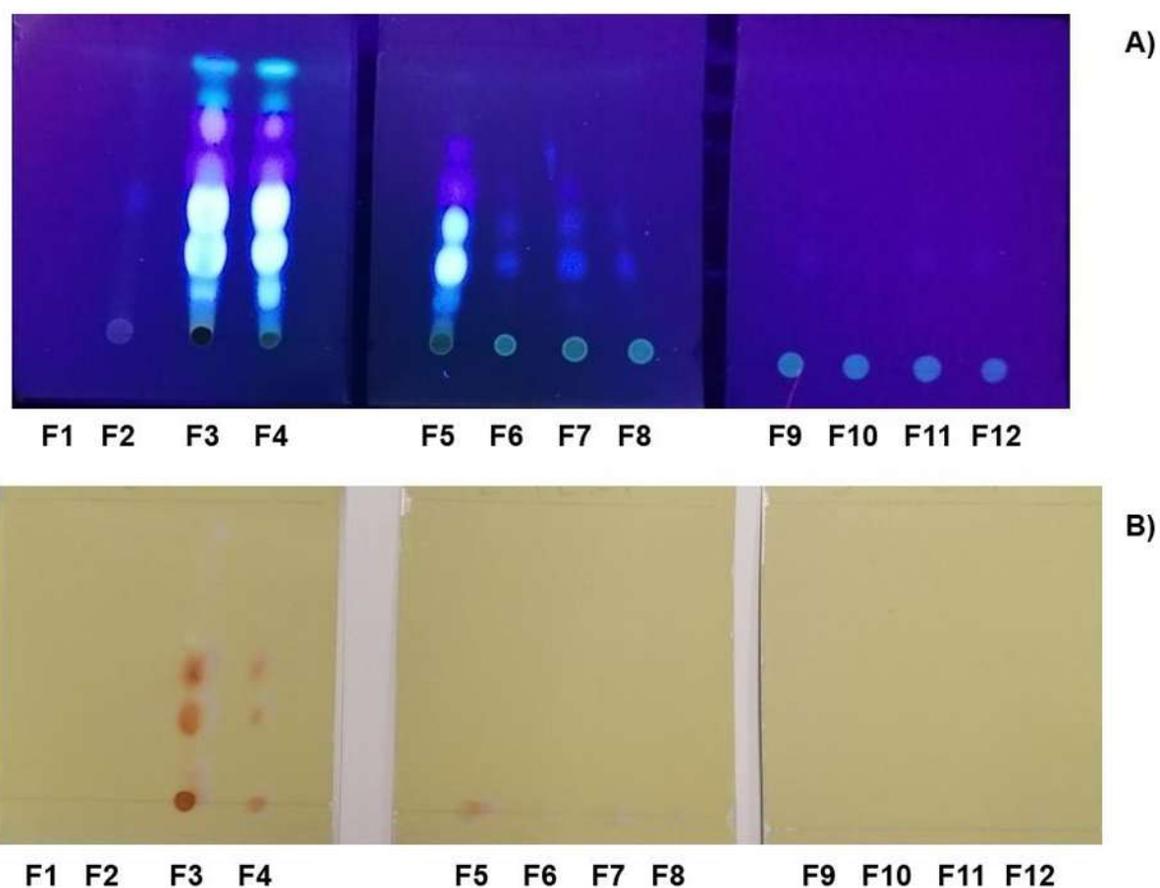


Figura 20. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto metanólico de *Tagetes lucida*, revelado con luz UV 365 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).

En el caso de los extractos de *Chloris gayana*, del extracto hexánico de *C. gayana* se colectaron 7 fracciones, donde la F3 y F4 muestran una coloración más intensa (Figura 21A). Para extracto el metanólico se obtuvieron 12 fracciones, notando que las fracciones F3 a F5 presentan una coloración más intensa (Figura 21B).

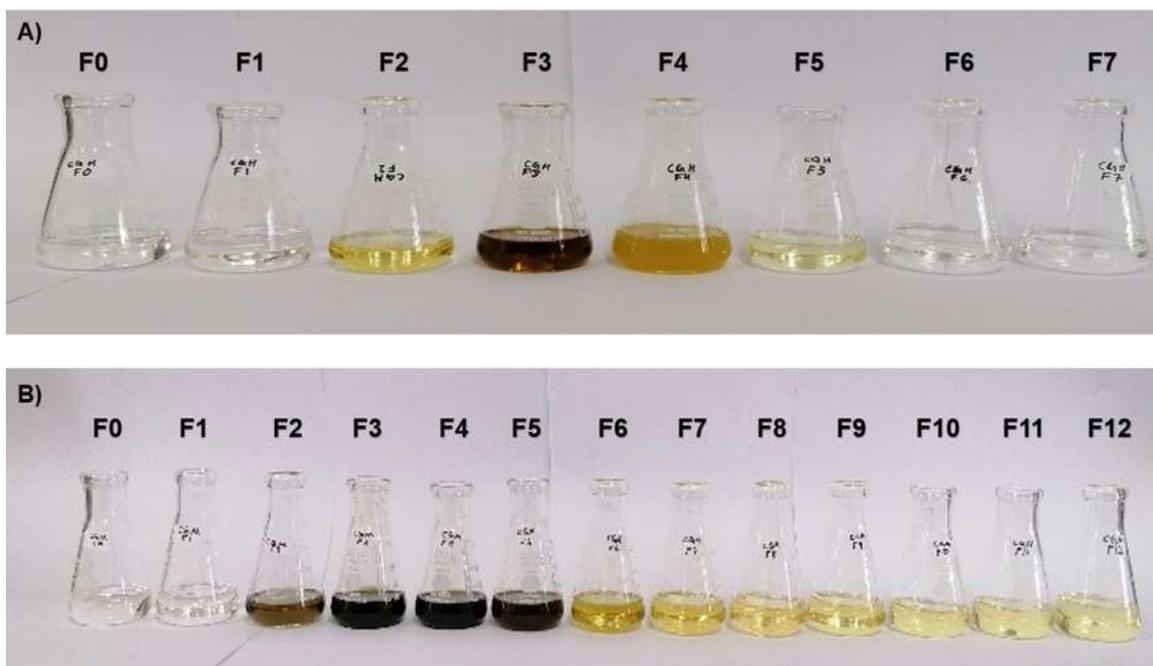


Figura 21. Fracciones del extracto hexánico (A) y metanólico (B) de *Chloris gayana*.

Las fracciones F3 y F4 obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de *Chloris gayana*, tuvieron el mayor rendimiento tras el fraccionamiento en cromatografía en columna. Los rendimientos de las fracciones obtenidas de los extractos de *C. gayana* se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Rendimiento de las fracciones obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de *Chloris gayana*.

Tipo de extracto	Fracción	Rendimiento (mg/g)
Extracto Hexánico de <i>Chloris gayana</i> (EHCG)	EHCG F1	0.0356
	EHCG F2	7.3156
	EHCG F3	22.8462
	EHCG F4	31.2836
	EHCG F5	4.5213
	EHCG F6	0.0852
	EHCG F7	0.0215
Extracto Metanólico de <i>Chloris gayana</i> (EMCG)	EMCG F1	0.0269
	EMCG F2	18.5768
	EMCG F3	29.5634
	EMCG F4	34.6348
	EMCG F5	26.4237
	EMCG F6	12.5386
	EMCG F7	9.2415
	EMCG F8	6.3542
	EMCG F9	4.1675
	EMCG F10	3.2936
	EMCG F11	2.1264
	EMCG F12	1.2062

El análisis en CCF de las fracciones obtenidas de los extractos de *Chloris gayana*, fueron poco notorias cuando se revelaron con luz UV, ya que las señales se observan solo en 2 muestras, tanto para las fracciones del extracto hexánico (Figura 22) y las obtenidas del extracto metanólico (Figura 23). Cabe señalar que las fracciones F3 y F4 obtenidas del extracto hexánico, son las que se alcanzan a observar (Figura 22A), apreciando señales en tonalidades azul, violeta y rojo. De

igual manera, se aprecian señales en las fracciones F3 y F4 del extracto metanólico de *C. gayana*, en su mayoría se aprecian señales de tonalidades rojas y violeta (Figura 23A).

Para el caso del revelado con sulfato cérico 0.1 N, no se aprecian señales en las fracciones obtenidas del extracto hexánico (Figura 22B) y tampoco en las fracciones del extracto metanólico (Figura 23B).

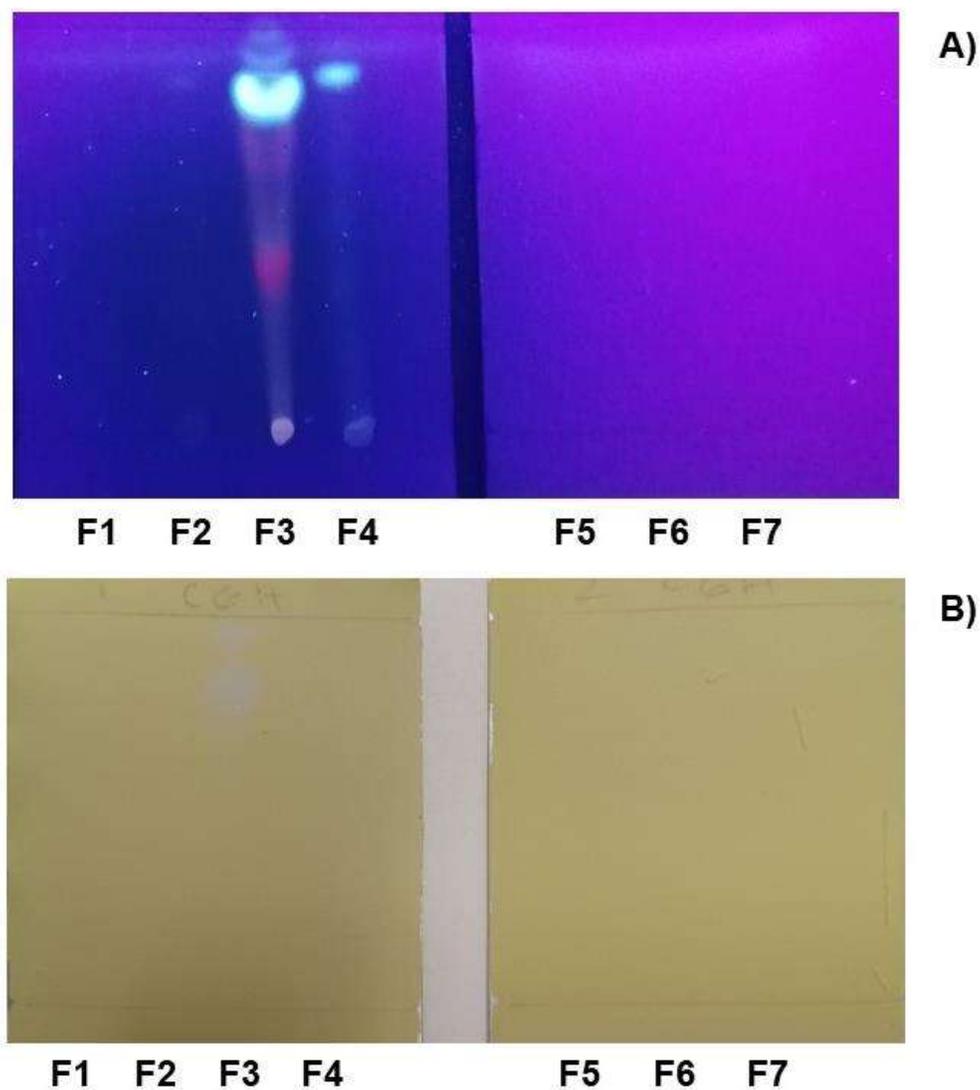


Figura 22. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto hexánico de *Chloris gayana*, revelado con luz UV 254 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).

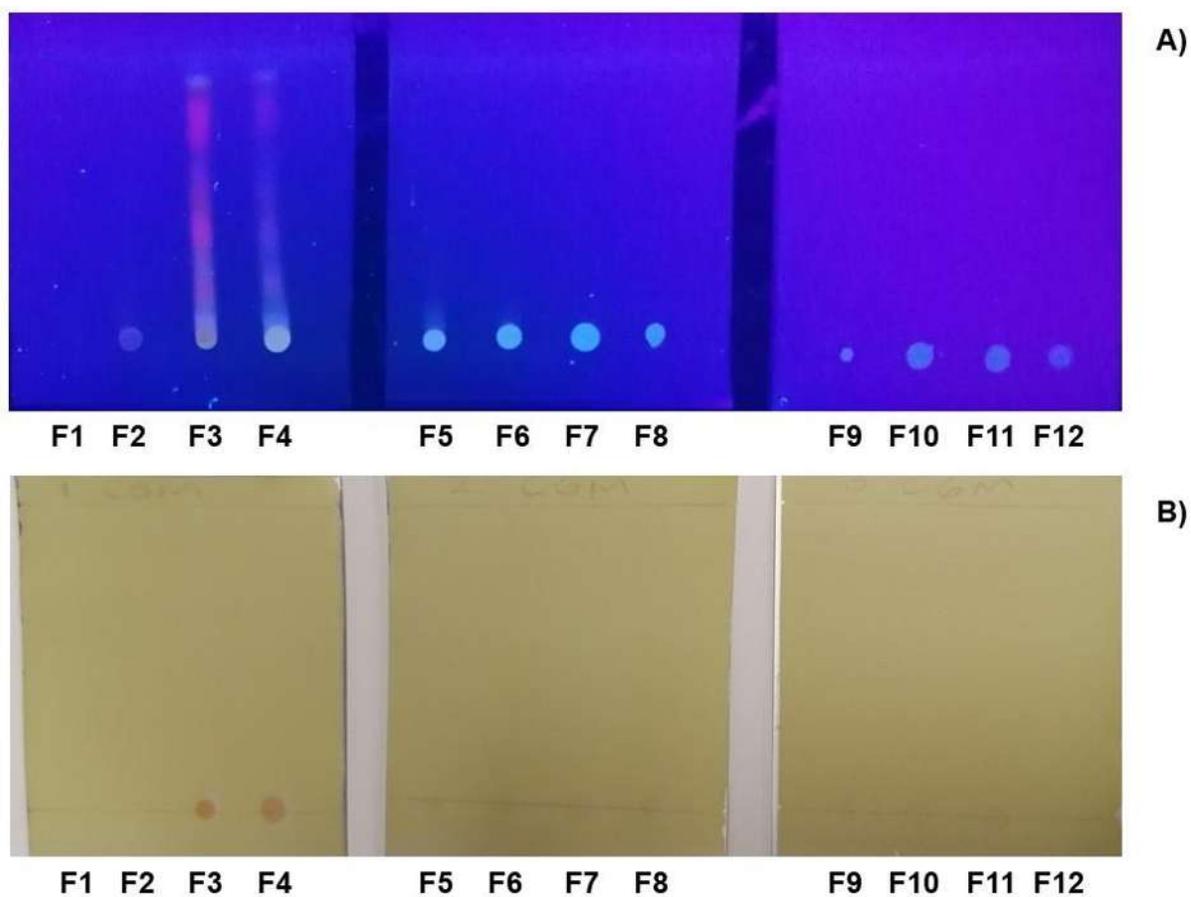


Figura 23. Cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas del extracto metanólico de *Chloris gayana*, revelado con luz UV 365 nm (A) y sulfato cérico 0.1 N (B).

Después del análisis de las fracciones obtenidas de los extractos de *T. lucida* y *C. gayana*, se procedió a determinar el efecto insecticida y modulación de la resistencia a cipermetrina sobre las larvas de *S. frugiperda*.

11.5 Actividad insecticida y modulación de la resistencia a cipermetrina de las fracciones de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana*.

Los bioensayos realizados para las fracciones obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana*, mostraron resultados significativos para algunas de las fracciones en específico.

Los resultados destacados de las fracciones del extracto hexánico de *T. lucida*, son los siguientes: La fracción 2 del extracto hexánico de *T. lucida* (EHTL F2) en 62.5 µg/mL, causó una mortalidad de 8.33% de las larvas; mientras que al combinarse con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad aumento a 56% (Figura 24a). La fracción 3 (EHTL F3) a 500 µg/mL, produjo una mortalidad de 23.33%; y en combinación con cipermetrina_{DL50} aumentó a 78% (Figura 24b). Para la fracción 4 (EHTL F4), la mortalidad fue de 26% a 250 µg/mL y en combinación con cipermetrina_{DL50} aumentó a 66% (Figura 24c).

En el caso de los extractos metanólicos de *Tagetes lucida*; la fracción 2 (EMTL F2) a 350 µg/mL causó mortalidad de 6.67%, al combinarse con cipermetrina_{DL50} aumentó a 42% (Figura 25a). En la fracción 3 (EMTL F3), la mortalidad fue de 26% a 350 µg/mL; y en combinación con cipermetrina_{DL50}, aumentó a 75% (Figura 25b). Para la fracción 4 (EMTL F4), la mortalidad fue de 13.33% a 350 µg/mL, y aumentó a 73.33% al combinarse con cipermetrina_{DL50} (Figura 25 C). La fracción 3 fue la que mostró el mayor efecto y estadísticamente significativo.

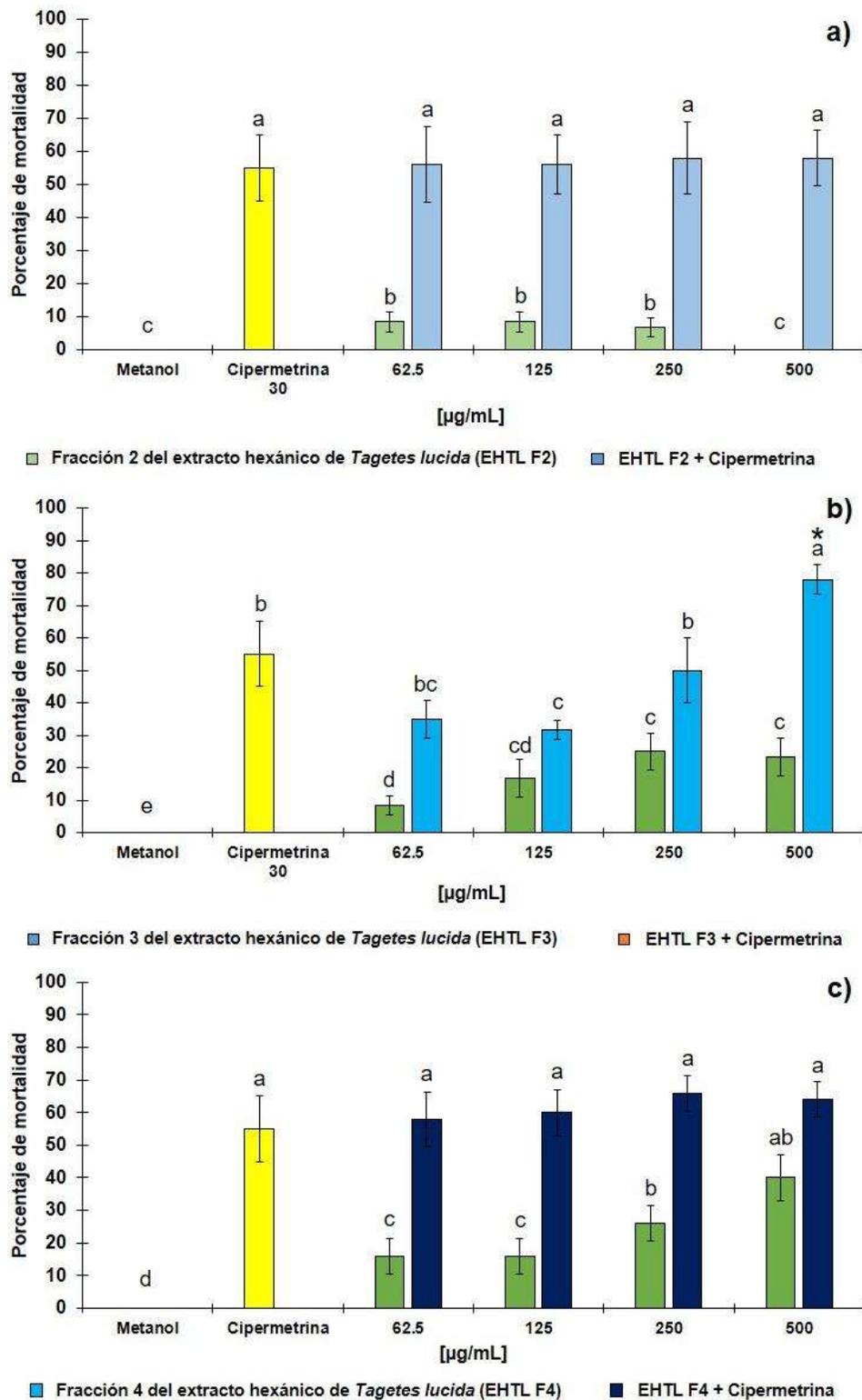


Figura 24. Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina de la Fracción 2 (a), Fracción 3 (b) y Fracción 4 (c) del extracto hexánico de *Tagetes lucida* en *Spodoptera frugiperda*.

De igual manera, se determinó el efecto en *Spodoptera frugiperda* de las fracciones obtenidas de los extractos de *Chloris gayana*; encontrando que, la fracción 3 del extracto hexánico (EHCG F3) causó una mortalidad de 16.66% a 475 µg/mL, y en combinación con cipermetrina_{DL50} alcanzó un 94% (Figura 26a). En el caso de la fracción 4 (EHCG F4), no mostró actividad por sí sola en las diferentes concentraciones analizadas, pero al combinar 237.5 µg/mL con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad alcanzó un 87.5% (Figura 26b). La fracción 5 (EHCG F5) tampoco causó actividad alguna por sí sola, pero al combinar 237.5 µg/mL con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad llegó al 70% (Figura 26c). Cabe mencionar que la actividad de la EHCG F5, no mostró ser estadísticamente significativa cuando se comparó con la actividad del control cipermetrina_{DL50} (65%).

Las fracciones obtenidas del extracto metanólico de *Chloris gayana*, mostraron resultados variados para las fracciones F2, F3 y F4 (Figura 27). La fracción 2 (EMCG F2) en todas las concentraciones analizadas, no tuvo actividad insecticida sobre las larvas; pero al combinarse 156.25 µg/mL con cipermetrina_{DL50}, alcanzó una mortalidad de 67.5% (Figura 27a). La fracción 3 (EMCG F3) a 1250 µg/mL causó una mortalidad del 15%; y en combinación con cipermetrina_{DL50} aumentó al 58% (Figura 27b). El efecto fue similar para la fracción 4 (EMCG F4) a 312.5 µg/mL, donde la mortalidad fue del 14%, y al combinarse con cipermetrina_{DL50}, llegó al 58% (Figura 27c). A pesar de las actividades mostradas por las fracciones del extracto metanólico de *Chloris gayana*, los datos no fueron estadísticamente significativos al compararse con el control cipermetrina_{DL50} (Figura 27).

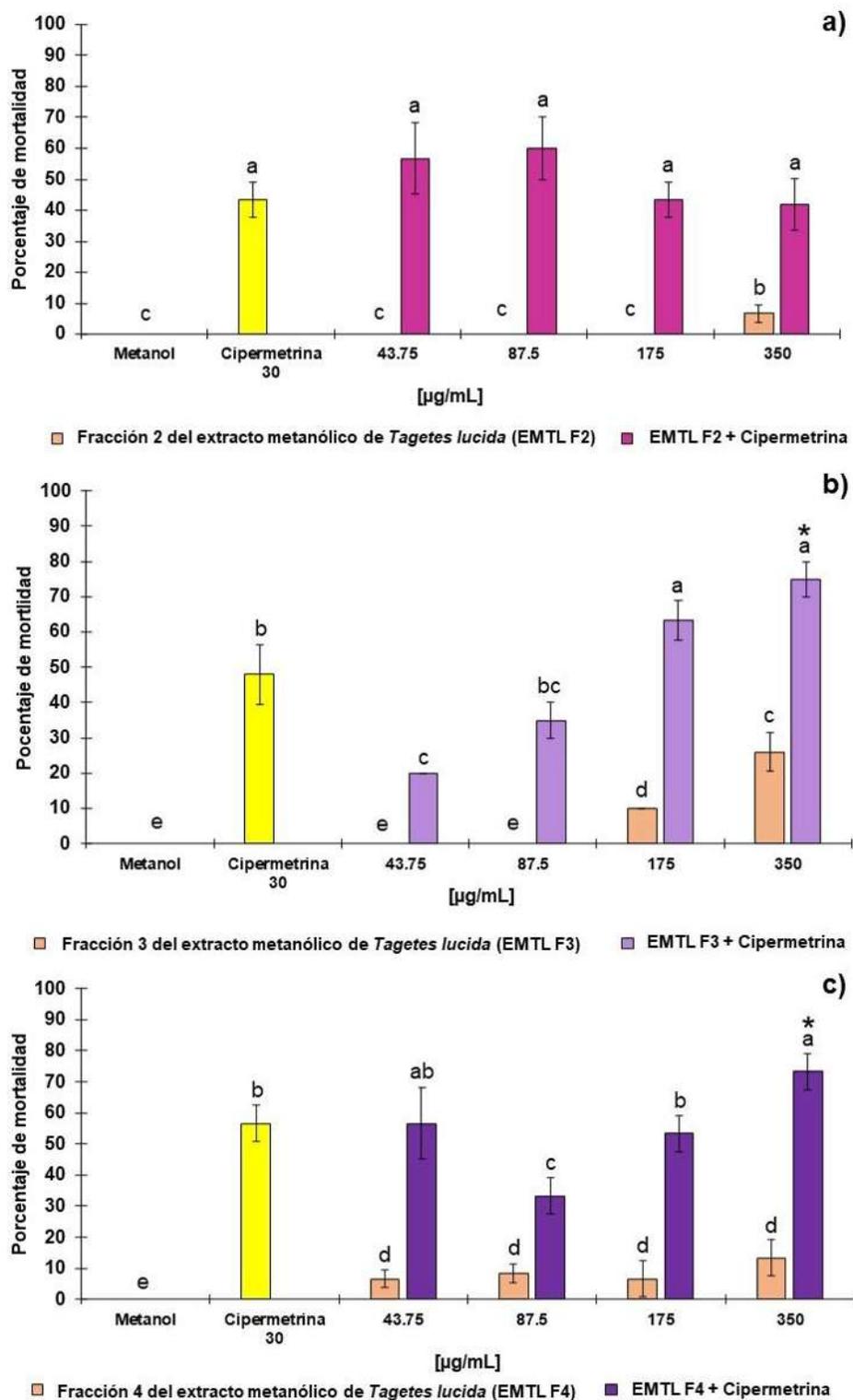


Figura 25. Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina de la Fracción 2 (a), Fracción 3 (b) y Fracción 4 (c) del extracto metanólico de *Tagetes lucida* en *Spodoptera frugiperda*.

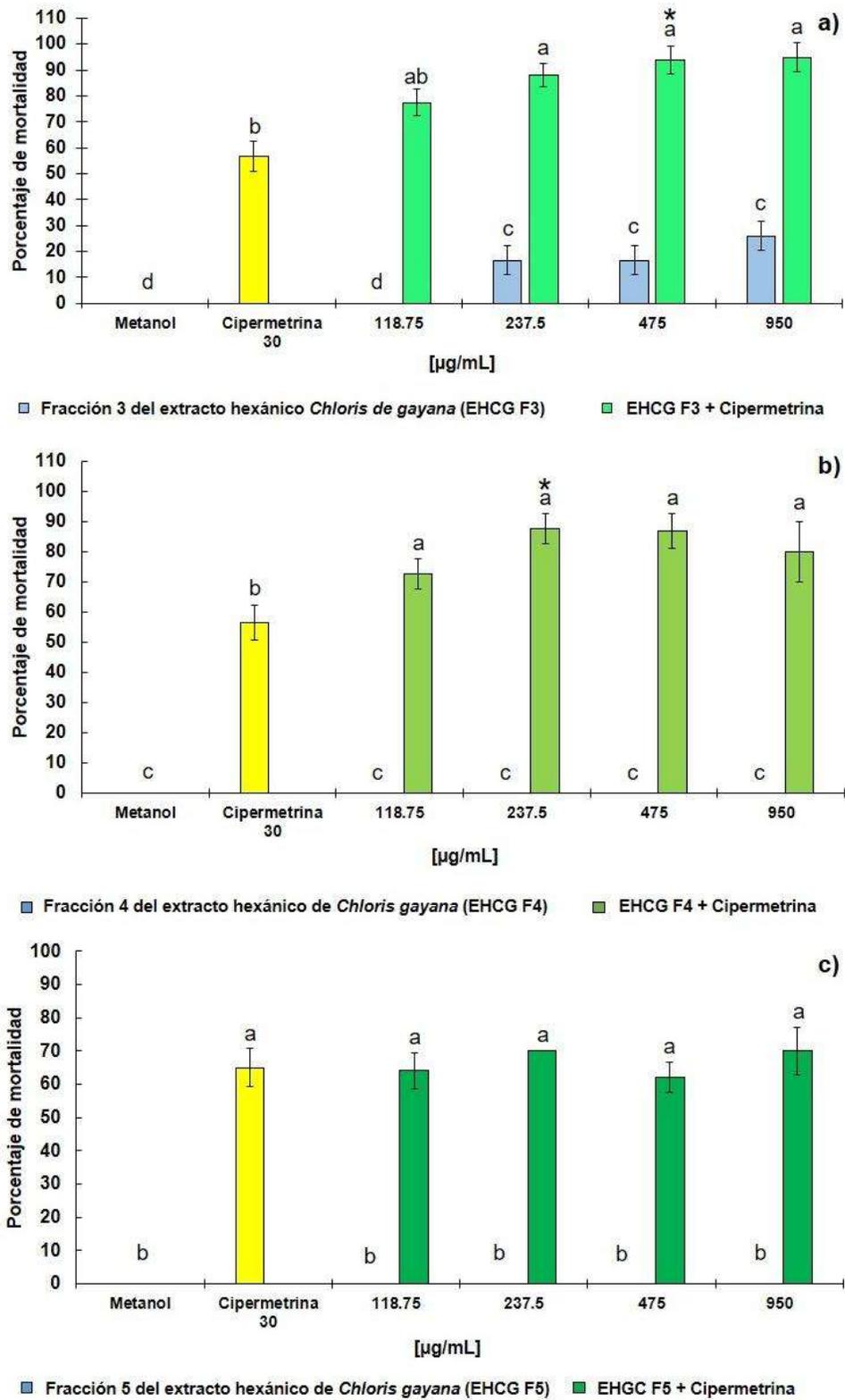


Figura 26. Actividad insecticida y moduladora de resistencia a cipermetrina de la Fracción 3 (a), Fracción 4 (b) y Fracción 5 (c) del extracto hexánico de *Chloris gayana* en *Spodoptera frugiperda*.

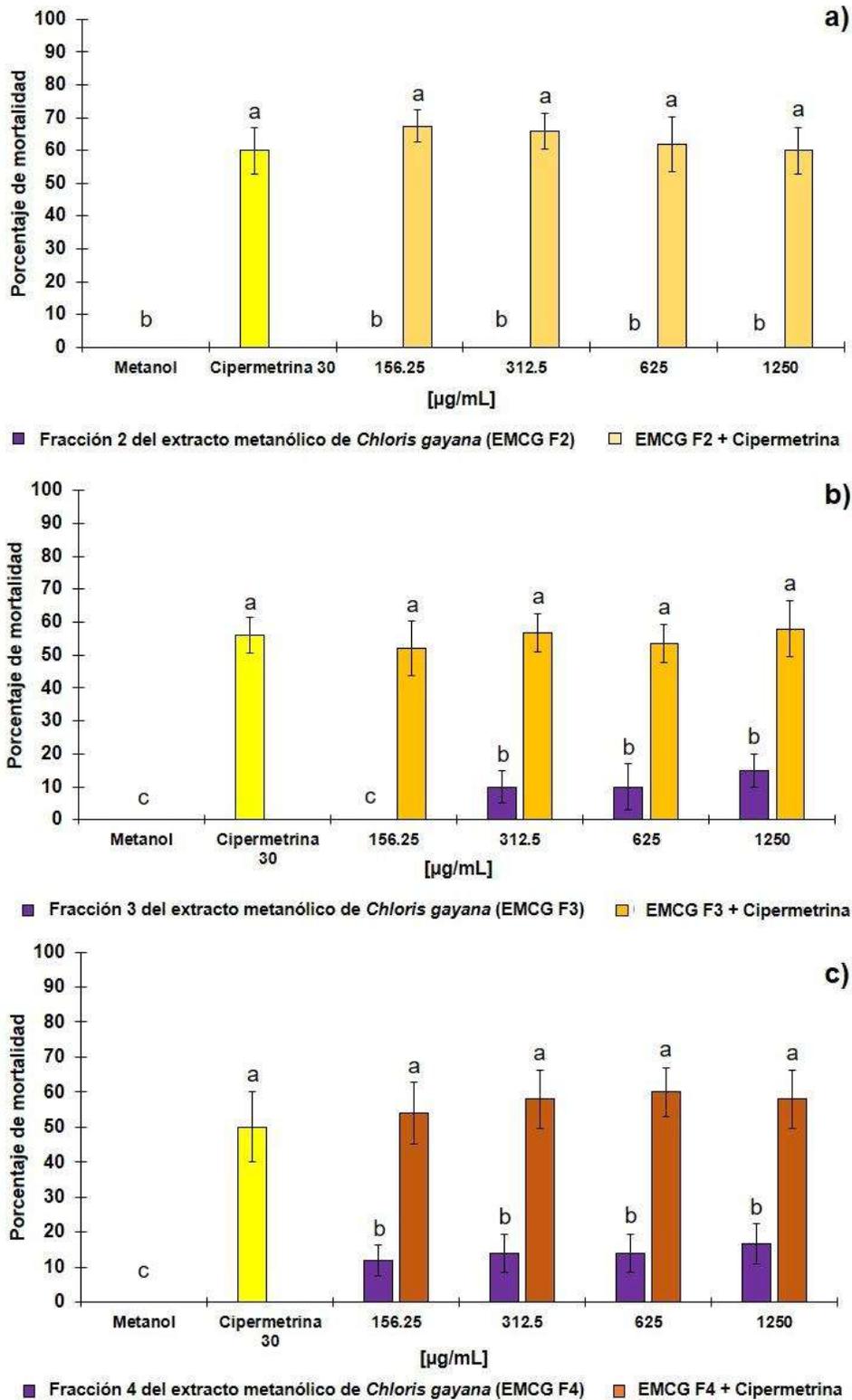


Figura 27. Actividad insecticida y moduladora de la resistencia a cipermetrina de la Fracción 2 (a), Fracción 3 (b) y Fracción 4 (c) del extracto metanólico de *Chloris gayana* en *Spodoptera frugiperda*.

El análisis de las fracciones y sus interacciones con cipermetrina mostró que las fracciones F3 de *T. lucida*, tanto en extracto hexánico y metanólico en combinación con cipermetrina_{DL50} mostraron el mayor efecto sinérgico entre los tratamientos de las fracciones (Tabla 12). En el caso de *C. gayana*, la F4 del extracto hexánico (EHCG) fue la que mostró el mayor efecto sinérgico (Tabla 12).

Tabla 12. Índices de sinergismo, adición y/o antagonismo de las fracciones activas de los extractos de las plantas *Tagetes lucida* y *Chloris gayana* en combinación con cipermetrina_{DL50}.

Planta	Tipo de extracto	Fracción	Concentración de la fracción (µg/mL)	Factor de interacción	
<i>Tagetes lucida</i>	Hexánico	EHTL F2	500	0.116	S
		EHTL F3	500	0.1953	S
		EHTL F4	500	0.1977	S
	Metanólico	EMTL F2	350	0.1361	S
		EMTL F3	350	0.2725	S
		EMTL F4	350	0.2395	S
<i>Chloris gayana</i>	Hexánico	EHCG F3	475	0.2438	S
		EHCG F4	237.5	0.3684	S
		EHCG F5	950	0.0736	S
	Metanólico	EMCG F2	1250	0.048	S
		EMCG F3	1250	0.05	S
		EMCG F4	1250	0.0591	S

Interpretación; si el factor de interacción es menor a 1 indica un efecto sinérgico (S), si es igual a 1 es efecto aditivo (AD) y si es mayor a 1 significa que es efecto antagónico (AN).

Con los resultados mostrados anteriormente, se determinó cuáles fueron las fracciones activas estadísticamente, a las cuales se les analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para identificar los compuestos presentes en ellas.

11.6 Composición química de las fracciones activas obtenidas de los extractos hexánicos y metanólicos de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana*.

Las fracciones que se analizaron fueron 3, mediante Cromatografía de gases-Espectrometría de masas para la identificación de sus compuestos.

De las fracciones obtenidas de *Tagetes lucida*, se analizó la fracción 3 del extracto hexánico (EHTL F3) y fracción 3 del extracto metanólico (EMTL F3); cuyo listado de compuestos se muestran en las tablas 13 y 14, respectivamente.

Tabla 13. Identificación de compuestos de la fracción 3 del extracto hexánico de *Tagetes lucida* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuestos	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
20.55	Metil eugenol	1407	1403	3.97
28.75	Herniarina	1739	1732	45.04
33.97	Escoparona	2042	2028	6.50
37.07	Umbeliferona	2141	1875	28.03
40.63	Escopoletina	2338	2305	14.92
43.94	Metil behenato	2536	2530	1.50

Tabla 14. Identificación de compuestos de la fracción 3 del extracto metanólico de *Tagetes lucida* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuestos	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
28.83	Herniarina	1743	1732	57.10
34.08	Escoparona	2045	2028	29.59
37.05	Umbeliferona	2141	1875	6.78
40.61	Escopoletina	2337	2305	6.52

En el caso de las fracciones obtenidas de *Chloris gayana*, se analizó la fracción 4 del extracto hexánico (EHCG F4), donde los compuestos mayoritarios fueron ácidos grasos de cadena media. El listado completo se muestra en la tabla 15.

Tabla 15. Identificación de compuestos de la fracción 4 del extracto hexánico de *Chloris gayana* mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Tiempo de retención (min)	Compuestos	Índice Kovats		Abundancia (%)
		Experimental	Referencia	
18.07	p-vinilguaiacol	1318	1315	7.87
34.27	Ácido palmítico etil éster	2050	1978	12.39
37.28	Ácido linolénico	2152	2143	49.97
37.56	Ácido linoléico etil éster	2167	2165	13.05
37.69	Ácido linolénico etil éster	2174	2198	13.26
38.11	Ácido esteárico etil éster	2197	2194	3.44

12. DISCUSIÓN

Mediante los bioensayos *in vivo* de toxicidad por contacto sobre las larvas L3 de *S. frugiperda*, pudo determinarse el efecto insecticida de los extractos de las tres malezas antes mencionadas. Los extractos de *T. lucida* mostraron mayor actividad insecticida que los extractos de *C. gayana* y *M. repens*. Es de resaltar que, las concentraciones utilizadas del extracto metanólico y hexánico de *T. lucida* fueron muy bajas, 187.5 y 250 µg/mL, presentando una mortalidad del 70% y 90%, respectivamente (Figura 15). En cambio, para el extracto metanólico y hexánico de *C. gayana*, fue necesario aplicar 437.5 y 500 µg/mL, alcanzando mortalidades del 15% y 50%, respectivamente (Figura 16). Notoriamente, las concentraciones utilizadas del extracto hexánico (2600 µg/mL) y metanólico (2925 µg/mL) de *M. repens* fueron muy altas, causando mortalidades del 43.3% y 35%, respectivamente (Figura 17). Estos resultados de las tres plantas, concuerdan con otras investigaciones que demuestran actividad insecticida de los extractos de plantas sobre diversas especies de insectos (Leyva *et al.*, 2017).

Recientemente, se ha evaluado que los formulados de plantas como *Eucalyptus globulus*, *Jatropha curcas*, *Petiveria alliacea*, *Ricinus communis* y *Ruta graveolens*, presentan actividad insecticida sobre *Spodoptera frugiperda* (López *et al.*, 2022). Así mismo, una investigación determinó que los extractos etanólicos de *Azadirachta indica* (750 mg/L), *Nicotiana tabacum* (250 mg/L), *Murraya paniculata* (1000 mg/L) y *Solanum nigrum* (500 mg/L), aplicados de manera tópica, poseen actividad insecticida sobre *S. frugiperda* ya que disminuyen la metamorfosis de larvas a insectos (Noguera y Morales, 2021). De igual forma, se ha reportado que extractos de *Melinis minutiflora* presentan un efecto repelente en larvas de las garrapatas, *Boophilus microplus* (Castrejón *et al.*, 2004) y *Amblyomma cajennense* (Hoyo *et al.*, 2018).

En relación con la actividad insecticida determinada en este trabajo, los bioensayos realizados con los extractos de *T. lucida*, *C. gayana* y *M. repens* y en combinación con cipermetrina, permitieron demostrar que estas plantas contienen metabolitos secundarios que inhiben la resistencia a dicho insecticida en *S. frugiperda*, ya que

se observó un aumento en el porcentaje de mortalidad en comparación con el efecto de los extractos por sí solos, indicando un efecto sinérgico al combinarse. El efecto potenciado si bien no fue observado para todas las concentraciones analizadas, se encontraron combinaciones efectivas que vale la pena resaltar. El extracto hexánico de *T. lucida* a 62.5 µg/mL causó mortalidad de 25% de larvas; y en combinación con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad aumentó al 92.5% (Figura 15). Para el extracto hexánico de *C. gayana*, la mortalidad fue 17.5% a 333 µg/mL y en combinación con cipermetrina_{DL50}, llegó al 97.5% (Figura 16). En *M. repens*, el extracto metanólico causó un 33.3% de mortalidad a 975 µg/mL, y aumentó a 80% al combinarse con cipermetrina_{DL50} (Figura 17).

Uno de los desafíos en el manejo y control de plagas, es el uso indiscriminado de insecticidas, ya que el abuso en la utilización excesiva de los insecticidas sintéticos ha fomentado la generación de resistencia en los insectos plaga, lo que conlleva a la aplicación de mayores concentraciones de esos plaguicidas, ocasionando también, la eliminación de una gran parte de organismos benéficos (Garcés, 2021). Se ha reportado que la aplicación de extractos o mezclas de compuestos de origen vegetal que produzcan un efecto sinérgico con los insecticidas y que también puedan inhibir la resistencia a dichos insecticidas, puede ayudar a disminuir el uso excesivo de plaguicidas (Zepeda-Jazo, 2018).

La identificación de los compuestos principales de los extractos hexánicos y metanólicos de las tres plantas analizadas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, mostró que la composición química de los extractos es muy variada en abundancia de diversos grupos de compuestos y depende del tipo de extracto y planta. Los compuestos identificados pertenecen a grupos como los terpenoides, fenilpropanoides, cumarinas, ácidos grasos de cadena media (saturados y monoinsaturados), y sus variantes esterificadas de los ácidos grasos.

Con la información anterior y compilando los resultados para los extractos completos, tenemos que las tres plantas presentaron actividad insecticida en sus dos versiones de los extractos (hexánicos y metanólicos), aunque en diferentes concentraciones de los extractos, mostrando que *Tagetes lucida* fue la que tuvo

mayor efecto insecticida a una menor concentración, cumpliéndose de este modo la hipótesis que se planteó, por lo cual se puede afirmar que estas plantas poseen una efectiva actividad insecticida y además pueden modular la resistencia a cipermetrina, como en el caso de *Tagetes lucida* y *Chloris gayana*.

Por lo tanto, la actividad insecticida ocasionada por los extractos metanólicos y hexánicos de las tres plantas sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda* se le atribuye a la presencia de los metabolitos secundarios, que en su mayoría han tenido un reporte de alguna actividad insecticida o repelente. Además, dichos compuestos presentes en los extractos, interaccionan sinérgicamente aumentando la susceptibilidad de las larvas de *S. frugiperda* a la Cipermetrina_{DL50}.

Para determinar los compuestos activos de las plantas seleccionadas, *T. lucida* y *C. gayana*, los extractos se fraccionaron por cromatografía en columna, obteniendo doce fracciones para cada extracto metanólico. En el caso de los extractos hexánicos se obtuvieron nueve fracciones de *T. lucida* y siete fracciones de *C. gayana*. De las fracciones analizadas, se encontró que las fracciones con mayor actividad fueron las siguientes: la fracción 3 del extracto metanólico de *T. lucida* a 350 µg/mL causó mortalidad de 26% que, al combinarse con cipermetrina_{DL50}, aumentó a 75% (Figura 25). La fracción 4 del extracto hexánico de *C. gayana*, no mostró actividad insecticida por sí sola, en cambio, cuando esta fracción a 237.5 µg/mL se combinó con cipermetrina_{DL50}, la mortalidad alcanzó un 87.5% (Figura 26). Estos resultados confirman el potencial insecticida de los compuestos presentes en las fracciones de *T. lucida* y *C. gayana*, además de que tiene la capacidad de potenciar la susceptibilidad a cipermetrina, cuando se combinan con dicho insecticida. En relación con la actividad de *Tagetes*, Castillo-Quispe y Barrantes-Arriola (2019) confirman el potencial insecticida de extractos obtenidos de plantas de este género, ya que determinaron que el extracto etanólico de *Tagetes minuta* (0.0007387 mg/Kg) aplicado por vía oral (método de inmersión de hojas), causa mortalidad del 50% en larvas L2 de *S. frugiperda*. Por otra parte, el estudio realizado por Santos y colaboradores (2016) demostró que los extractos de *T. erecta* y *T.*

patula tienen efecto insecticida sobre *Sitophilus zeamais*, cuando se administraron por vía tópica (método de aspersión).

Los compuestos identificados en la fracción 3 del extracto metanólico de *T. lucida* fueron herniarina, umbeliferona, escoparona y escopoletina. Para la fracción 4 del extracto hexánico de *C. gayana*, los compuestos mayoritarios fueron el ácido linolénico, ácido linoleico etil éster, ácido palmítico etil éster, ácido esteárico etil éster y p-vinilguaiacol. Con estos resultados, se puede apreciar que algunos de los compuestos mayoritarios estuvieron presentes en mayor concentración en las fracciones activas y el fraccionamiento de los extractos cumplió su objetivo en la separación de los metabolitos.

Los compuestos identificados en la fracción activa de *T. lucida* coinciden con algunos de los compuestos reportados por Torres-Martínez *et al.*, 2022. Además, ya se habían identificado por HPLC-MS a siete cumarinas y tres flavonoides, en un extracto metanólico/clorofórmico de esta planta, donde esos compuestos fueron: 8-dihidroxicumarina, umbeliferona, escoparona, esculetina, 6-hidroxi-7-metoxicumarina, herniarina, escopoletina, patuletina, quercetina y quercetagetina (Céspedes *et al.*, 2006).

En el caso de los compuestos encontrados en la fracción activa de *C. gayana*, los reportes son prácticamente nulos para dicha especie, en su mayoría reportan el contenido mineral de calcio, fósforo, magnesio, sodio, hierro, cobre, zinc y potasio, como valor nutricional (Okukenu *et al.*, 2021) y se ha reportado la presencia de taninos, alcaloides, esteroides y triterpenos por pruebas cualitativas (Oliveira, 2014). Sin embargo, se ha reportado que el aceite de *Moringa oleífera*, que principalmente presenta a los ácidos oleico y palmítico, poseen actividad insecticida contra *S. frugiperda* (Kamel, 2010). En el mismo sentido, González-Casarrubias (2019) reportan que un tratamiento de alimentación enriquecido con ácido oleico, linoléico, palmítico y esteárico, mostraron actividad insecticida sobre larvas de *S. exigua*. Cabe destacar, que en ningún artículo se ha reportado la composición química de los metabolitos secundarios de *Chloris gayana*, lo cual representa un gran aporte a futuras investigaciones sobre esta especie considerada solamente como una

maleza, y brinda apertura al estudio de sus posibles usos y actividades biológicas en base a sus compuestos químicos.

En específico, se ha reportado que la fracción 5 (F5) de *T. lucida* obtenida por cromatografía en columna causó un 100% de inhibición sobre el crecimiento de los hongos *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum acutatum* (Fulgencio-Negrete, 2013), sin embargo, la actividad insecticida de dicha fracción no fue determinada en ese trabajo u otra investigación. En esa investigación, se identificó al metil eugenol con un 94.4% de abundancia en la fracción F5, al cual se le atribuyó el efecto fungicida, sin embargo, no se reportó la presencia de cumarinas (Fulgencio-Negrete, 2013).

Los compuestos mayoritarios de los extractos y fracciones identificados por cromatografía de gases-espectrometría de masas en este trabajo, han tenido reportes por distintos autores, que demuestran su actividad insecticida sobre diversas especies de insectos considerados como plaga. Dichos reportes, así como la especie sobre la que tienen el efecto, se muestran en la tabla 16.

En comparación, los extractos completos de las tres plantas mostraron actividad insecticida sobre las larvas de *S. frugiperda*, pero las fracciones obtenidas de *T. lucida* y *C. gayana*, presentaron un efecto insecticida específico, dependiente de la fracción. De igual manera, la resistencia hacia la cipermetrina estuvo modulada notoriamente por las fracciones activas, superando al efecto presentado por los extractos. En su mayoría, los efectos se vieron potenciados sinérgicamente entre los compuestos presentes en las fracciones activas y se aumentó la susceptibilidad a la cipermetrina_{DL50}. Por lo cual, podemos aseverar que las fracciones activas tienen un mayor potencial insecticida y modulación de la resistencia cipermetrina en *S. frugiperda*, que los extractos completos.

Los compuestos presentes en los extractos y fracciones analizadas en este trabajo, presentaron un efecto equivalente a una fumigación directa en los insectos plaga, ya que la aplicación fue por vía tópica. Se desconoce al momento, si los extractos o fracciones poseen efecto anti-alimentario o tóxico por ingestión, cuando la aplicación sea por vía oral.

Tabla 16. Compuestos mayoritarios identificados en los extractos de las tres plantas y fracciones con reporte de actividad insecticida en diversas especies de insectos.

Compuesto con actividad insecticida	Efecto sobre especie	Referencia
Herniarina	<i>Ae. Aegypti</i>	Oranday <i>et al.</i> , 2008.
Ácido palmítico	<i>S. frugiperda</i> <i>An. culicifacias</i> <i>S. exigua</i> .	Pérez-Gutiérrez <i>et al.</i> , 2011; Sogan <i>et al.</i> , 2021; González-Casarrubias, 2019.
Ácido linolénico	<i>S. frugiperda</i>	Ramos-López <i>et al.</i> , 2012.
ε-Nerolidol	<i>R. dominica</i>	Nascimento <i>et al.</i> , 2018.
Umbeliferona	<i>Anopheles arabiensis</i> <i>Ae. aegypti</i>	Narayanaswamy <i>et al.</i> , 2014; Álvarez-Valverde, 2021.
Ácido linoléico	<i>Erythrina variegata</i> <i>S. exigua</i> <i>S. frugiperda</i>	Baranitharan <i>et al.</i> , 2019; González-Casarrubias, 2019; Ramos-López <i>et al.</i> , 2012.
Linalol	<i>Ae. aegypti</i> <i>T. castaneum</i>	Aciole <i>et al.</i> , 2011; Cao <i>et al.</i> , 2018.
Estragol	<i>Ae. aegypti</i>	Aciole <i>et al.</i> , 2011.
α-Muuroleno	<i>C. pusillus</i>	López-Belqui, 2008.
Escopoletina	<i>Phthorimaea operculella</i> <i>Ae. aegypti</i> <i>Ceratitis capitata</i> <i>Tetranychus cinnabarinus</i>	Sharma <i>et al.</i> , 2006; Álvarez-Valverde, 2021; Campagna, 2015; Ma <i>et al.</i> , 2020.
Escoparona	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2022.
Metil eugenol	<i>R. dominica</i> <i>Anopheles funestus</i> <i>Cydia pomonella</i>	López-Belqui, 2008; Rants'o <i>et al.</i> , 2023; Alkan <i>et al.</i> , 2023.
p-Vinilguaiacol	<i>D. melanogaster</i>	Shu <i>et al.</i> , 2012.
Óxido de cariofileno	<i>Ae. Aegypti</i> <i>Sitophilus zeamais</i>	Aciole <i>et al.</i> , 2011; Liu <i>et al.</i> , 2012.
Ácido esteárico	<i>Earias vittella</i>	Pavunrai <i>et al.</i> , 2017.
Ácido oleico	<i>Ae. aegypti</i> <i>Culex quinquefasciatus</i>	Gurunathan <i>et al.</i> , 2016.

Finalmente, este trabajo proporciona una investigación comparativa de la composición química, actividad insecticida y modulación de la resistencia a cipermetrina de los extractos y fracciones de las plantas *Tagetes lucida*, *Chloris gayana* y *Melinis repens*.

13. CONCLUSIONES

Los extractos completos de *Tagetes lucida* tienen mayor actividad insecticida sobre larvas L3 de *Spodoptera frugiperda* en comparación con los extractos *Chloris gayana* y *Melinis repens*.

Los compuestos mayoritarios presentes en los extractos de *Tagetes lucida* fueron de tipo terpenoide como metil eugenol y estragol; además de cumarinas como la herniarina, umbeliferona, escopoletina y escoparona.

La combinación de los extractos hexánicos de *T. lucida* y *C. gayana* con cipermetrina, tienen la capacidad de potenciar la susceptibilidad a dicho insecticida en *S. frugiperda*.

Por otra parte, la fracción 4 del extracto hexánico de *Chloris gayana* no posee una actividad insecticida por sí sola, sin embargo, presenta la mayor capacidad de aumentar la mortalidad en las larvas cuando se le combina con cipermetrina.

Los metabolitos identificados en la fracción 4 del extracto hexánico de *C. gayana* fueron ácido linolénico, ácido linoléico etil éster, ácido palmítico etil éster y p-vinilguaiacol, como compuestos mayoritarios.

14. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aciole, S.D., Piccoli, C.F., Costa, E.V., Navarro-Silva, M.A., Marques, F.A., Sales Maia, B.H. y Rebelo, M.T. (2011). Actividad insecticida de tres especies de Guatteria (Annonaceae) contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 37 (2), 262-268.

Adesina, J. M. (2022). Constituyentes bioactivos y toxicidad fumigante de extractos de *Datura metel* como protector de granos e inhibición de emergencia de progenie de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Revista de enfermedades y protección de las plantas*, 129(4), 819-829.

ASERCA (Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios) (2018). Maíz grano cultivo representativo de México. Alimento, forraje y materia prima para la industria. [Online] <https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico?idiom=es>.

Agricultural Research Service, "Corn. Boosting Quality, Productivity and Safety", U.S. Department of Agriculture, EEUU, 2010.

Ahmed, M., Peiwen, Q., Gu, Z., Liu, Y., Sikandar, A., Hussain, D. y Ji, M. (2020). Actividad insecticida y composición bioquímica de los extractos de *Citrullus colocynthis*, *Cannabis indica* y *Artemisia argyi* contra el pulgón de la col (*Brevicoryne brassicae* L.). *Informes científicos*, 10 (1), 1-10.

Akhtar, M., Ahmad, N. y Booij, M. J. (2008). The impact of climate change on the water resources of Hindukush–Karakorum–Himalaya region under different glacier coverage scenarios. *Journal of hydrology*, 355(1-4), 148-163.

Alkan, M., Özdem, A., Yılmaz, A., Yücel, C., Inak, E., Ertürk, S. y Toprak, U. (2023). Emulsion oil in water formulation of methyl-eugenol increases its insecticidal activity against *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Applied Entomology and Zoology*, 58(2), 139-148.

Alatorre-Rosas, R., Bravo-Mojica H., Leyva-Vásquez, J. y Huerta, P. A. (2014) Fichas técnicas Sobre actividades agrícolas, pecuarias y de traspatio: Manejo integrado de plagas, Secretaria de agricultura, Ganadería, desarrollo rural pesca y Alimentación. Consultado el 12/09/21. Recuperado de: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Manejo%20integro%20de%20plagas.pdf>

Álvarez, L.C., Ponce, G., Saavedra-Rodríguez, K., López, B. y Flores, A.E. (2015). Frecuencia de las mutaciones V1016I y F1534C en el gen del canal de sodio dependiente de voltaje en *Aedes aegypti* en Venezuela. *Ciencia del manejo de plagas*, 71 (6), 863-869.

Álvarez-Valverde, V. (2021). Estudio de la actividad larvicida y la composición fitoquímica asociada de extractos de plantas para el control del mosquito *Aedes aegypti*. *Universidad Nacional de Costa Rica*. Tesis de maestría, p. 54.

Asif, M., Tariq, M., Khan, A., Rehman, B., Parihar, K., & Siddiqui, M.A. (2017). Potential role of aqueous extract of some weeds against egg hatching and juvenile mortality of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agriculture and Crops*, 3(2), 17-24.

Ayala, O. R., Navarro, F. y Virla, E. G. (2013). Evaluación de las tasas de ataque y nivel de daños por el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), afectando cultivos de maíz en el noreste argentino. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 45 (2), 1-12.

Ayil-Gutiérrez, B. A., Sánchez-Teyer, L. F., Vazquez-Flota, F., Monforte-González, M., Tamayo-Ordóñez, Y., Tamayo-Ordóñez, M. C. y Rivera, G. (2018). *Biological effects of natural products against Spodoptera spp. Crop Protection*, 114, 195-207.

Baranitharan, M., Sawicka, B. y Gokulakrishnan, J. (2019). Phytochemical profiling and larval control of *Erythrina variegata* methanol fraction against malarial and filarial vector. *Advances in Preventive Medicine*, 2019.

Barrera, J.F. (2007). Introducción, filosofía y alcances del control biológico. XIII Curso Nacional. *Control Biológico*. 2-13.

- Batista, L.S. (2015). Análisis de la toxicidad de *Chloris gayana* Kunth (POACEAE) mediante la determinación de la CL₅₀. *Universidade Federal de Campina Grande*, Cuité. Paraíba, Brasil. p. 43.
- Bekele, D. (2018). Review on insecticidal and repellent activity of plant products for malaria mosquito control. *Biomed. Res. Rev*, 2, 1-7.
- Bernal, J.S. (2007). Biología, ecología y etología de parasitoides. Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303, 61-74.
- Bhalla, R., Narasimhan, K. y Swarup, S. (2005). La metabolómica y su papel en la comprensión de las respuestas celulares en las plantas. *Informes de células vegetales*, 24 (10), 562-571.
- Bingham, M.G., Willemen, A., Wursten, B.T., Ballings, P. y Hyde, M.A. (2022). Flora de Zambia: Información de la especie: *Melinis repens* subsp. Reprénde https://www.zambiaflora.com/speciesdata/species.php?species_id=107420, consultado el 27 de noviembre de 2022
- Bisset, J.A. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(3), 202-219.
- Bolognesi, C., y Merlo, F. D. (2011). Encyclopedia of environmental health. *Pesticides: human health effects*. Burlington: Elsevier, 438-453.
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S. y Gontier, E. (2001). Producción de metabolitos secundarios vegetales: una perspectiva histórica. *Ciencias de las plantas*, 161 (5), 839-851.
- Bradfute, O. E., y Robertson, D. C. (1977). Electron microscopy as a means for discovery of new maize viruses and virus-like pathogens. In *International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop*, Wooster, Ohio (USA) Aug 1976. Ohio Agricultural Research and Development Center. 16-19.
- Briggs, S. A. y Carson C.R. (1986). *Basic guide to pesticides: their characteristics and hazards*. CRC Press. 1, 316.

Bye, R. A. (1986). Plantas medicinales de la Sierra Madre: estudio comparativo de plantas tarahumaras y del mercado mexicano. *Botánica Económica*, 40 (1), 103-124.

Cáceres, M., Drago, A., Orihuela, P.S. y Vassena, C.V. (2023). La resistencia metabólica a la deltametrina está mediada por P450 y esterasas en las chinches de cama comunes *Cimex lectularius* L. (Heteroptera: Cimicidae). *Diario de la Asociación Europea de Control de Mosquitos*, 41 (1), 11-16.

Campagna, M.N. (2015). Estudios endomorfológicos, actividad biológica y caracterización fitoquímica de extractos de especies nativas de la familia Simaroubaceae, p. 264.

Cao, J.Q., Guo, S.S., Wang, Y., Pang, X., Geng, Z.F. y Du, S.S. (2018). Toxicidad y repelencia del aceite esencial de los frutos de *Evodia lenticellata* Huang y sus principales monoterpenos contra tres insectos de productos almacenados. *Ecotoxicología y Seguridad Ambiental*, 160, 342-348.

Callaway, R.M. y Ridenour, W.M. (2004). Armas novedosas: éxito invasivo y la evolución de una mayor capacidad competitiva. *Fronteras en Ecología y Medio Ambiente*, 2 (8), 436-443.

Carbajal, A., Sánchez, M., y Romero, E. (2019). Bioplaguicidas: un sustituto de los plaguicidas químicos. *RD-ICUAP*, 5(13), 16.

Castiglioni, E., Vendramim, J. D., y Tamai, M. A. (2002). Evaluación del efecto tóxico de extractos acuosos y derivados de meliáceas sobre *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari, Tetranychidae). *Agrociencia-Sitio en Reparación*, 6(2), 75-82.

Castillo-Quispe, M.R., y Barrantes-Arriola, C.D.C. (2019). Determinación de la DL50 y TL50 de los extractos etanólicos de *Tagetes minuta* "Huacatay" y *Lantana camara* "Lantana" sobre *Spodoptera frugiperda* "gusano cogollero de maíz" en fase larval del segundo instar, en condiciones de laboratorio, p. 96.

Castrejón, F. J. M., Vázquez, C. C., Ruvalcaba, M. F., y Torres, J. M. (2004). Efecto repelente de extractos de *Melinis minutiflora* sobre larvas de la garrapata *Boophilus microplus*. *Veterinaria México*, 35(2), 153-159.

Celio-López, C. (2021). Toxicidad de extractos botánicos como método de control para *Spodoptera frugiperda* (Smith) Y *Aedes aegypti* L (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Chapingo). p. 69.

Céspedes, C.L., Avila, J.G., Martínez, A., Serrato, B., Calderón-Mugica, J.C., y Salgado-Garciglia, R. (2006). Antifungal and antibacterial activities of Mexican tarragon (*Tagetes lucida*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(10), 3521-3527.

Chu, S.S., Liu, Q.R., Jiang, G.H., y Liu, Z.L. (2012). Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Amethystea caerulea* L. *Natural Product Research*, 26(13), 1207-1212.

Chul, K. S., Park., S. y Gyu-Lee, D. (1999). Purification and characterization of a novel chitinase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 73, 276-281.

Ciccio, J. F. (2004). A source of almost pure methyl chavicol: volatile oil from the aerial parts of *Tagetes lucida* (Asteraceae) cultivated in Costa Rica. *Revista de biología tropical*, 52(4), 853-857.

COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios) (2015). Plaguicidas. Consultado el 21/09/22 recuperado de: <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/PlaguicidasYFertilizantes.aspx>

COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios) (2020). Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR. Consultado el 04/02/23, Recuperado de: <http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.as>

[p](#)

- Cordeau, S., Triolet, M., Wayman, S., Steinberg, C. y Guillemin, J.P. (2016). Bioherbicidas: ¿Muertos en el agua? Una revisión de los productos existentes para el manejo integrado de malezas. *Protección de cultivos*, 87, 44-49.
- Damián-Badillo, L. M., Salgado-Garciglia, R., Martínez-Muñoz, R. E., y Martínez-Pacheco, M. M. (2008). Antifungal properties of some Mexican medicinal plants. *The Open Natural Products Journal*, 1(1), 27-33.
- Dávalos, M. (2017). Malezas: las competidoras más importantes. Buenos aires: *Consejo Federal de inversiones*, p. 180-214.
- Demir, I., Eryüzlü, E. y Demirbağ, Z. (2012). Estudio de caracterización y patogenicidad de bacterias de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae). *Revista turca de biología*, 36(4), 459-468.
- Després, L., David, J. P., y Gallet, C. (2007). The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends in ecology & evolution*, 22(6), 298-307.
- Díaz-Mota, M., García-Mateos, M., Martínez-Solís, J., Acosta-Ramos, M., Serrato-Cruz, M., Colinas-León, M., Magdaleno-Villar, J. (2017). Fitotoxicidad de los extractos de *Dieffenbachia amoena*, *Nerium oleander*, *Raphanus sativus* y *Brassica napobrassica*. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 49(2), 303-318.
- Ducrot, P. (2005). Contribución de la química orgánica a la comprensión de la actividad biopesticida de los productos naturales procedentes de plantas superiores. París y andover: *Lavoisier et intercept, Ltd. regnault, Bioespesticides of plants origin*, 47-58.
- Dusfour, I., Vontas, J., David, J.P., Weetman, D., Fonseca, D.M., Corbel, V. y Chandre, F. (2019). Manejo de la resistencia a insecticidas en los principales vectores *Aedes* de arbovirus: avances y desafíos. *PLoS enfermedades tropicales desatendidas*, 13 (10), e0007615.
- Egas, V., Salazar-Cervantes, G., Romero, I., Méndez-Cuesta, C.A., Rodríguez-Chávez, J.L., y Delgado, G. (2018). Metabolitos anti-*Helicobacter pylori* de *Heterotheca inuloides* (árnica mexicana). *Fitoterapia*, 127, 314-321.

Errecalde, J., Mestorino, N., Fiel, C., y Nari, A. (2013). Terapéutica de las ectoparasitosis. Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. *Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control*. Montevideo: Editorial hemisferio sur, 625-30.

Espinoza, A., Vaquerano-Castro, B., Torres, R., y Montiel, H. (2003). Efectos de los plaguicidas en la salud y el ambiente en Costa Rica. In *Efectos de los plaguicidas en la salud y el ambiente en Costa Rica*, 36-36.

Fait, A. y Colosio, C. (1998). Recent advances and current concepts in pesticide hazards. *The year book of occupational and environmental medicine*, 15-29.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2017). Ciclo biológico del gusano cogollero del maíz (en América Latina). 1, 06-17. <https://www.fao.org/publications/card/en/c/fc84eb0c29df-475e9d888a73957e9d1b/>.

Fenalce, F. (2010). El cultivo del maíz, historia e importancia. *El Cerealista*, 93(10), 10-19.

Fernández-García, M. E. (2013). Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius): nivel de resistencia, resistencias cruzadas y mecanismos implicados. *Universidad Politécnica de Cartagena*. 146 p. <http://hdl.handle.net/10317/3849>

Fernández, J. L. (2002). Nota corta: Estimación de umbrales económicos para *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo del maíz. *Invest. Agric. Prod. Prot. Veg*, 17(3), 468-472.

Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. In *Anales del sistema sanitario de Navarra*. Gobierno de Navarra. Departamento de Salud. 26, 155-171.

Feyereisen, R. (2005). Insect cytochrome P450. *Comprehensive molecular insect science*, 1-77.

Feyereisen, R. (2011). Los CYPomes de artrópodos ilustran el tempo y el modo en la evolución de P450. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteínas y proteómica*, 1814 (1), 19-28.

Food and Agriculture Organization (FAO). 2017. Base de datos de producción agropecuaria FAOSTAT. Disponible en <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>.

Fulgencio-Negrete, R. (2013). Propiedad antifúngica de compuestos volátiles de tres plantas medicinales (nurite, santa maría y toronjil) sobre hongos patógenos de fresa. Tesis de Maestría Institucional en Tecnología Alimentaria, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 85 p.

Garcés, A. (2021). Efecto insecticida de plantas aromáticas en combinación con dos tipos de biol en algunas plagas del cultivo de maíz. *Manglar* 18(4), 381-388.

García, M. E. F. (2013). Resistencia a insecticidas en *Bemisia tabaci* (Gennadius): nivel de resistencia, resistencias cruzadas y mecanismos implicados. *Master disertation, Universidad Politécnica de Cartagena*. 146 p.

García-Gutiérrez, C., González-Maldonado, M. B. y Cortez-Mondaca, E. (2012). Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai*, 8(3), 57-71.

González-Casarrubias, I. I. (2019). Actividad biológica de los ácidos grasos en *Spodoptera exigua* y en su depredador *Chrysoperla externa* (Maestría en Ciencias en Manejo Agroecológico de Plagas y Enfermedades). Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, México.

González-Maldonado, M. B.; Gurrola-Reyes, J. N. y Chaírez-Hernández, I. (2015). Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Colomb. Entomol*, 41(2), 200-204.

González-Merino, A. y Ávila-Castañeda, J. F. (2014). El maíz en Estados Unidos y en México: Hegemonía en la producción de un cultivo. *Argumentos (México, DF)*, 27(75), 215-237.

González, C. G. (2019). El papel de los metabolitos secundarios en la agricultura. CIALTEC. Última actualización 27.06.19. Revisado 21.08.22. [Online]

<https://www.ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/El-papel-de-los-metabolitos-secundarios-en-la-agricultura/124>.

González-Casarrubias, I. I. (2019). Actividad biológica de los ácidos grasos en *Spodoptera exigua* y en su depredador *Chrysoperla externa*. Tesis (Maestría en Ciencias en Manejo Agroecológico de Plagas y Enfermedades), *Instituto Politécnico Nacional, CEPROBI*, 1, p. 52.

González, J. J. (2011). Diversidad del maíz y teocintle. Informe preparado para el proyecto global. Recopilación, generación, actualización y análisis de información acerca de la diversidad genética de maíces y sus parientes silvestres en México de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, DF: *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Proc. R. Soc.*

González-Maldonado, M. B., Gurrola-Reyes, J. N. y Chaírez-Hernández, I. (2015). Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 41(2), 200-204.

Greco, W., Unkelbach, H. D., Pösch, G., Sühnel, J., Kundi, M. y Bödeker, W. (1992). Consensus on concepts and terminology for combined-action assessment: the Saariselkä agreement. *Arch Complex Environ Stud*, 4(3), 65-9.

Guadarrama-Cruz, G., Alarcón-Aguilar, F.J., Lezama-Velasco, R., Vázquez-Palacios, G. y Bonilla-Jaime, H. (2008). Efectos similares a los antidepresivos de *Tagetes lucida* Cav. en la prueba de nado forzado. *Revista de etnofarmacología*, 120(2), 277-281.

Guedes, R. N. C., Roudakis, E., Campos, M. R., Haddi, K., Bielza, P., Siqueira, H. A. A. y Nauen, R. (2019). Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *Journal of Pest Science*, 92(4), 1329-1342.

Guevara-González, J., Narváez-Flies, C., Marín-Navarrete, A., Gutiérrez-López, J. y Troncoso-Troncoso, C. (2019). Bioherbicida a partir de extracto fenólico obtenido de residuos de almazaras. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), 497-503.

- Guiño, M. (2003). Evolución de metabolitos secundarios desde una perspectiva ecológica y filogenética molecular. *Fitoquímica*, 64(1), 3-19.
- Gurunathan, A., Senguttuvan, J. y Paulsamy, S. (2016). Evaluation of mosquito repellent activity of isolated oleic acid, eicosyl ester from *Thalictrum javanicum*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 78(1), 103.
- Guzmán, M. y Martínez-Ovalle, M. J. (2019). Las malezas, plantas incomprendidas. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 6(1), 68-76.
- Harborne, J. B. (2000). Arsenal for survival: secondary plant products. *Taxon*, 49(3), 435-449.
- Hayes, W.J. Chlorinated hydrocarbons insecticides. En: Hayes WJ, Lawes ER, editors. *Pesticides studied in Man*. San Diego: Academic Press, 1991: 731-868.
- Hernández, T., Canales, M., Flores, C., García, A.M., Duran, A., y Avila, J. G. (2006). Antimicrobial activity of *Tagetes lucida*. *Pharmaceutical biology*, 44(1), 19-22.
- Hernández-Delgado, S., Reyes-López, M.A., García-Olivares, J.G., Mayek-Pérez, N. y Reyes-Méndez, C.A. (2007). Incidencia de hongos potencialmente toxígenos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 25(2), 127-133.
- Hoyo, P. I. D., Loya-Olguín, L., Gómez-Danés, A., Valdés-García, Y., Velázquez-Fernández, B., y Martínez-González, S. (2018). Chemical composition of *Melinis minutiflora* extract and its repellent and ixodicide effect on *Amblyomma cajennense* larvae. *Revista Científica de la Facultad de Veterinaria*, 28(2).
- Jannet, H.B., H-Skhiri, F., Mighri, Z., Simmonds, M.S.J. y Blaney, W.M. (2001). Actividad antialimentaria de extractos de plantas y de nuevos compuestos diglicéridos naturales aislados de hojas de *Ajuga pseudoiva* contra larvas de *Spodoptera littoralis*. *Cultivos y productos industriales*, 14(3), 213-222.
- Kamel, A.M. 2010. Can we use the moringa oil as botanical insecticide against *Spodoptera frugiperda*?. *Academic Journal of Entomology*, 3(2), 59-64.

Kester, J. E. Endocrine-Disrupting Chemicals. *En: Sullivan JB, Krieger GR editors. Clinical Environmental Health and Toxic Exposures. Philadelphia: Lippincott William and Wilkins, 2001: 362-373.*

Kleden, Y. L. y Simamora, A. V. (2021). Detección de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en un campo de maíz en el Distrito de Flores Oriental, Provincia de Nusa Tenggara Oriental, Indonesia. *Revista Internacional de Tierras Secas Tropicales*, 5 (1), 20-26.

Leiva, P. D. y Iannone, N. (1994). Manejo de insectos plaga del cultivo de maíz. *Revista del Instituto nacional de tecnología agropecuaria de Pergamino*, 1(1).

Lenardon, S.L., Conci, L.R., Gomez, G.G., Nome, C.F., Gonzalez, M. y Nome, S.F. (1997). Fitoplasma asociado al enrojecimiento del maíz. VI Congreso Nacional del maíz. Noviembre 1997. *Pergamino*. Tomo I (II): 10-16.

Leng, P., Zhang, Z., Pan, G. y Zhao, M. (2011). Aplicaciones y tendencias de desarrollo en bioplaguicidas. *African Journal of Biotechnology*, 10(86), 19864-19873.

Leyva, M., French, L., Pino, O., Montada, D., Morejón, G., y Marquetti, M. C. (2017). Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos. *Revista biomédica*, 28(3), 139-181.

Liu, Y., Wang, E., Yang, X. y Wang, J. (2010). Contribuciones de los cambios climáticos y varietales de cultivos a la producción de cultivos en la llanura del norte de China, desde la década de 1980. *Biología del Cambio Global*, 16(8), 2287-2299.

Liu, P., Liu, X. C., Dong, H. W., Liu, Z. L., Du, S. S. y Deng, Z. W. (2012). Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Illicium pachyphyllum* fruits against two grain storage insects. *Molecules*, 17(12), 14870-14881.

López-Belchí, M. D. (2008). Toxicidad volátil de monoterpenoides y mecanismos bioquímicos en insectos plaga del arroz almacenado. Tesis doctoral, 230p.

López, J. J., Chirinos, D. T., Ponce, W. H., Solórzano, R. F. y Alarcón, J. P. (2022). Actividad insecticida de formulados botánicos sobre el gusano cogollero,

Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 48(1), e11739.

López-Monroy, B., Gutierrez-Rodriguez, S.M., Villanueva-Segura, O.K., Ponce-García, G., Morales-Forcada, F., Alvarez, LC. y Flores, A.E. (2018). Frecuencia e intensidad de resistencia a piretroides a través del bioensayo de botella de CDC y su asociación con la frecuencia de mutaciones *kdr* en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de México. *Ciencia del manejo de plagas*, 74 (9), 2176-2184.

Luna-López, A.M. (2013). Evaluación de dietas alternativas en la producción del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) bajo condiciones de laboratorio. Tesis presentada obtener el título de Ingeniero en Agrobiología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 71 p.

Ma, X., Zhang, Y., Zhou, H., Liu, J., Guo, F., Luo, J. y Zhang, Y. (2020). Silencing T-type voltage-gated calcium channel gene reduces the sensitivity of *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) to scopoletin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 227, 108644.

Maciel, J.R., Silva, W.C. y Costa-E-Silva, M.B. (2013) El género *Chloris* (Poaceae) en Pernambuco, Brasil. *Rodriguesia*, 64(1), 169-177. Disponible en: <http://rodriguesia.jbrj.gov.br>.

Mamane, A., Baldi, I., Tessier, J.F., Raheison, C. y Bouvier, G. (2015). Occupational exposure to pesticides and respiratory health. *European Respiratory Review*, 24(136), 306-319.

Mapes, C. 2009. Sistemas agrícolas tradicionales con maíz, en *Proyecto Global de Maíces Nativos*, [www.biodiversidad.gob.mx/genes/], 2009.

Martínez, M. E. E. (2022). Principales insectos plaga del maíz (*Zea mays* L.) en Ecuador. *Revista Científica Agroecosistemas*, 10(3), 182-191.

Melgoza-Castillo, A., Balandrán-Valladares, M. I., Mata-González, R. y Pinedo-Álvarez, C. (2014). Biología del pasto rosado *Melinis repens* (Willd.) e implicaciones

para su aprovechamiento o control: Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 5(4), 429-442.

Méndez, D., Guevara, P., Torres, C. y Camacho, K. (2012). Perspectivas del cultivo de maíz, primer semestre de 2012. Colombia: Departamento de Información Económica y Estadística: Fenalce. 22 p.

Millán, C. (2008). Las plantas: una opción saludable para el control de plagas, Impreso en I. Rosgal SA, *RAPAL-Uruguay (Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina)*, 65 p.

Mkenda, P., Mwanauta, R., Stevenson, P. C., Ndakidemi, P., Mtei, K. y Belmain, S. R. (2015). Extracts from field margin weeds provide economically viable and environmentally benign pest control compared to synthetic pesticides. *PloS One*, 10(11), e0143530.

Montes, G.N., Reyes, M.C.A., Montes, R.N. y Cantú, A.M.A. (2009). Incidencia de hongos potencialmente toxigénicos en granos de maíz (*Zea mays* L.) utilizados como alimento humano y animal. *CyTA—Journal of Food*, 7(2), 119-125.

Moreno, C.R. y Racelis, A.E. (2015). Attraction, repellence, and predation: Role of companion plants in regulating *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphidae) in organic kale systems of south Texas. *Southwestern Entomologist*, 40(1), 1-14.

Moreno-Limón, S., González-Solís, L. N., Salcedo-Martínez, S. M., Cárdenas-Ávila, M. L. y Perales-Ramírez, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium sp.* *Polibotánica*, (32), 193-205.

Morra, M.J., Popova, I.E. y Boydston, R.A. (2018). Actividad bio-herbicida de extractos de harina de semilla de *Sinapis alba*. *Cultivos y productos industriales*, 115, 174-181.

Munkvold, G.P. y White, D.G. (2016). Back Matter. In Compendium of Corn Diseases. *The American Phytopathological Society*. 4, 147-165.

Murphy, S.D. Toxic effects in pesticides. En: Klaasen CD, Ambdur MO, Doull J, editors. Cassaret and Doull's Toxicology: the basic science of poisons. New York: Macmillan, 1986: 543-553.

Narayanaswamy, V. K., Gleiser, R. M., Kasumbwe, K., Aldhubiab, B. E., Attimarad, M. V. y Odhav, B. (2014). Evaluation of halogenated coumarins for antimosquito properties. *The Scientific World Journal*, 2014.

Nascimento, A. F. D., da Camara, C. A. y Moraes, M. M. D. (2018). Fumigant activity of *Schinus terebinthifolius* essential oil and its selected constituents against *Rhyzopertha dominica*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71(1), 8359-8366.

Nauen, R., Stumpf, N. y Elbert, A. (2002). Estudios toxicológicos y mecanicistas sobre la resistencia cruzada de neonicotinoides en *Bemisia tabaci* tipo Q (Hemiptera: Aleyrodidae). *Ciencia del manejo de plagas*, 58 (9), 868-875.

Nault, L. R. (1980). Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. *Phytopathology*, 70(7), 659-662.

Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R. y Vázquez-Montoya, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3), 17-29.

Nenaah, G.E., Ibrahim, S.I. y Al-Assiuty, B.A. (2015). Composición química, actividad insecticida y persistencia de tres aceites esenciales de Asteraceae y sus nanoemulsiones contra *Callosobruchus maculatus* (F.). *Revista de investigación de productos almacenados*, 61, 9-16.

Nikkon, F., Habib, M. R., Karim, M. R., Ferdousi, Z., Rahman, M. M. y Haque, M. E. (2009). Actividad insecticida de la flor de *Tagetes erecta* L. contra *Tribolium castaneum* (Herbst). *Revista de investigación de agricultura y ciencias biológicas*, 5(5), 748-753.

Noguera, Y. y Morales, P. (2021). Actividad insecticida de extractos etanólicos sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Revista Científica PUNKURI*, 1(2), 94-103.

Novoa, A., González, L., Moravcová, L. y Pyšek, P. (2012). Efectos de las características del suelo, la alelopatía y la frugivoría en el establecimiento de la planta invasora *Carpobrotus edulis* y una nativa concurrente, *Malcolmia littorea*. *PLoS One*, 7 (12), e53166.

Núñez, J.C.R., Ramírez, M.F.V. y Castro, M.C.D.R. (2014). Caracterización biológica y molecular de cepas exóticas de Baculovirus SfNPV, con actividad bioinsecticida hacia una población mexicana del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Interciencia*, 39(5), 320-326.

Nkya, T. E., Akhouayri, I., Kisinza, W., y David, J. P. (2013). Impact of environment on mosquito response to pyrethroid insecticides: facts, evidences and prospects. *Insect biochemistry and molecular biology*, 43(4), 407-416.

Okukenu, O. A., Eesuola, A. A., Dele, P. A., Akinyemi, B. T., Amisu, A. A., Onifade, O. S., Jolaosho, A. O., Owuye, O. A. y Adegboyega, S. S. (2021). Chemical composition of *Brachiaria ruziziensis* and *Chloris gayana* as affected by age at harvest. *Nigerian Journal of Animal Production*, 48(6):312-320.

Ojeda-Bustamante, W., Sifuentes-Ibarra, E., Íñiguez-Covarrubias, M. y Montero-Martínez, M.J. (2011). Impacto del cambio climático en el desarrollo y requerimientos hídricos de los cultivos. *Agrociencia*, 45(1), 1-11.

Oliveira, M.J.C.D. (2014). Prospección fitoquímica de *Chloris gayana* Kunth (Poaceae). 53 p. Consultado (05/01/23). Disponible en: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/9399>.

Omer, E. A., Hendawy, S. F., El-Deen, A. N., Zaki, F. N., Abd-Elgawad, M. M., Kandeel, A. M. y Ismail, R. F. (2015). Some biological activities of *Tagetes lucida* plant cultivated in Egypt. *Adv. Environ Biol*, 9(2), 82-88.

Omura, T. y Sato, R. (1964). El pigmento fijador de monóxido de carbono de los microsomas hepáticos. I. Evidencia de su naturaleza hemoproteica. *J Biol Chem*, 239 (7), 2370-2378.

Oranday, A., Martínez, G., Nuñez, A., Rivas, C. y Flores, A. E. (2008). Coumarin isolated from *Tagetes lucida* Cav. exhibits larvicidal activity in *Aedes aegypti* (L.). *Southwestern Entomologist*, 33(4), 315-317.

Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS), División Salud y Ambiente. Plaguicidas y salud en las Américas, *Washington: OMS/OPS*, 1993.

Palacios, C. A. P., Reyes, M. P. y Morales, S. G. V. (2018). Extractos botánicos con potencial insecticida: *Baccharis salicifolia* (Ruiz y Pavón) Pers. *Jóvenes en la ciencia*, 4(1), 733-737.

Pavunraj, M., Baskar, K., Duraipandiyar, V., Al-Dhabi, N. A., Rajendran, V., & Benelli, G. (2017). Toxicity of Ag nanoparticles synthesized using stearic acid from *Catharanthus roseus* leaf extract against *Earias vittella* and mosquito vectors (*Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*). *Journal of Cluster Science*, 28, 2477-2492.

Pecci, M. G., Laguna, I. G. y Lenardon, S. (2012). Enfermedades del maíz producidas por virus y mollicutes en Argentina. *INTA*, Buenos Aires 1, 200.

Pérez-Gutiérrez, S., Zavala-Sánchez, M. A., González-Chávez, M. M., Cárdenas-Ortega, N. C. y Ramos-López, M. A. (2011). Bioactivity of *Carica papaya* (Caricaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecules*, 16(9), 7502-7509.

Pichersky, E. y Gershenzon, J. (2002). La formación y función de los volátiles vegetales: perfumes para la atracción y defensa de los polinizadores. *Opinión actual en biología vegetal*, 5 (3), 237-243.

Quinteros, E., Tamayo, S. S., Marín, J. E. O. y Placeres, M. R. (2019). Factores de riesgo de intoxicaciones agudas por plaguicidas en El Salvador, 2017. *Alerta*, 2(1), 40-50.

Rants'o, T. A., Koekemoer, L. L. y van Zyl, R. L. (2023). The insecticidal activity of essential oil constituents against pyrethroid-resistant *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology International*, 95, 102749.

- Ramírez, J.A. y Lacasaña, M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Laborales*, 4 (2), 67-75.
- Ramos, O. V. H., Castro, N. S., López, S. J. A., Briones, E. F. y Huerta, A. J. (2009). Impacto del estrés hídrico y la temperatura alta sobre plantas cultivadas: el caso del maíz (*Zea mays* L.) en Tamaulipas. *Revista Digital Universitaria. Universidad Autónoma de Tamaulipas*. URL: <http://www.turevista.uat.edu.mx>.
- Ramos-López, M. A., González-Chávez, M. M., Cárdenas-Orteg, N. C. y Zavala-Sánchez, M. A. (2012). Activity of the main fatty acid components of the hexane leaf extract of *Ricinus communis* against *Spodoptera frugiperda*. *African Journal of Biotechnology*, 11(18), 4274-4278.
- Ramzan, M., Ilahi, H., Adnan, M. y Ullah, A. (2021). Observation on fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on maize under laboratory conditions. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 14(1), 99-104.
- Reséndiz, Z., López, J., Osorio, E., Estrada, B., Pecina, J., Mendoza, M. A., y Reyes, C. (2016). Importancia de la resistencia del maíz nativo al ataque de larvas de lepidópteros. *Temas de ciencia y tecnología*, 20(59), 3-14.
- Riaz, B., Zahoor, M. K., Zahoor, M. A., Majeed, H. N., Javed, I., Ahmad, A. y Sultana, K. (2018). Toxicity, phytochemical composition, and enzyme inhibitory activities of some indigenous weed plant extracts in fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, p. 12.
- Rocha-Mendoza, M. (2003). Actividad antioxidante y efecto citotóxico de los extractos acetónicos de callo y lígula de *Tagetes lucida* y *Tagetes patula* sobre la línea celular hela. 78 p.
- Rodríguez-del-Bosque, L. A., y Arredondo-Bernal, H. C. (2007). Fundamentos ecológicos del control biológico. Teoría y Aplicación del Control Biológico. *Sociedad Mexicana de Control Biológico*, México, 1935 p.

Ruiz-Corral, J. A., Medina-García, G., Ramírez-Díaz, J. L., Flores-López, H. E., Ramírez-Ojeda, G., Manríquez-Olmos, J. D., y Mora-Orozco, C. D. L. (2011). Cambio climático y sus implicaciones en cinco zonas productoras de maíz en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2(SPE2), 309-323.

Saavedra-Rodríguez, K., Campbell, C.L., Lozano, S., Penilla-Navarro, P., López-Solís, A., Solís-Santoyo, F. y Black I.V., W.C. (2021). Resistencia a la permetrina en *Aedes aegypti*: variantes genómicas que confieren resistencia al derribo, recuperación y muerte. *PLoS Genetics*, 17 (6), e1009606.

Sagarpa (2013), "Agricultura de autoconsumo", [www.sagarpa.gob.mx, abril], México, 2013.

Sagarpa (2017), "Agricultura de autoconsumo", [www.sagarpa.gob.mx, abril], México, 2017.

Salazar, L. F. y Hincapié, E. (2013). Arvenses de mayor interferencia en los cafetales. *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*, 12 p.

Saldívar, R. H. L. (2003). Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (DC) Coville]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 214-222.

Sánchez-Cohen, I., Inzunza-Ibarra, M. A., Catalán-Valencia, E. A., González-Barrios, J. L., González-Cervantes, G. y Velásquez-Valle, M. (2012). Variabilidad climática y productividad agrícola en zonas con errático régimen pluvial. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(4), 805-811.

Sánchez, H. (2003). Manejo de insecticidas en ambientes urbanos, p. 203-236. *In Bases para el manejo racional de insecticidas*. Silva, G., y R. Hepp [Eds]. 310 p.

Santos, P.C., Santos, V.H., Mecina, G.F., Andrade, A.R., Fegueiredo, P.A., Morales, V.M. y Silva, R.M. (2016). Actividad insecticida de *Tagetes* sp. sobre *Sitophilus zeamais* Mots. *Revista internacional de investigación ambiental y agrícola*, 2 (4), 31-38.

Saunders, J. L., Coto, D. T., y King, A. B. S. (1998). Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. *Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica*, 52, 287.

Schneider, A. A. (2007). La flora naturalizada en el estado de Rio Grande do Sul, Brasil: plantas herbáceas subespontáneas. *Biociencias*, 15(2), 257-268.

Shao, X., Xia, S., Durkin, K. A. y Casida, J. E. (2013). Insect nicotinic receptor interactions in vivo with neonicotinoid, organophosphorus, and methylcarbamate insecticides and a synergist. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(43), 17273-17277.

Sharma, D.C., Badiyala, A. y Choudhary, A. (2006). Bioefficacy and Persistent Toxicity of Biopesticides and Insecticides against *Potato Tuber Moth*, *Phthorimaea operculella* Zell. on *Sprngng Potato*. *Pesticide Research Journal*, 18, 43-46.

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2018). Atlas Agroalimentario. 1ra Edición. SAGARPA. 236 p. <http://www.gob.mx/siap>.

Sierra-Ruíz, M.L., García-Rodríguez, Y. M., Torres-Martínez, R., Delgado-Lamas, G., y Espinosa-García, F. J. (2022). Procedimientos para establecer y mantener una cría del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) en condiciones de laboratorio. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 26(1), 134-154.

Simón, M. R., y Golik, S. I. (2018). Cereales de verano. Series: Libros de Cátedra. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/68613>

Smith, C. J. y Perfetti, T. A. (2019). Aproximadamente una cuarta parte de las sustancias químicas del Grupo 3 de IARC (no clasificables) encajan más apropiadamente en el Grupo 4 de IARC (probablemente no cancerígenos). *Investigación y aplicación de toxicología*, 3, 239784731984064.

Sogan, N., Kala, S., Kapoor, N. y Nagpal, B. N. (2021). Phytochemical analysis of *Spergula arvensis* and evaluation of its larvicidal activity against malarial vector *An. culicifacies*. *South African Journal of Botany*, 137, 351-358.

Sosa, M. A., y Vitti-Scarel, D. E. (2004). Impacto del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith) en maíces Bt en el norte santafesino. Universidad Nacional del Nordeste, *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, 19 p.

Stöckle, C.O., Nelson, R.L., Higgins, S., Brunner, J., Grove, G., Boydston, R. y Kruger, C. (2010). Evaluación del impacto del cambio climático en la agricultura del este de Washington. *Cambio climático*, 102(1), 77-102.

Terriere, L.C. (1984). Inducción de enzimas de desintoxicación en insectos. *Revisión anual de Entomología*, 29(1), 71-88.

Thembo, K. M., Vismer, H. F., Nyazema, N. Z., Gelderblom, W.C.A. y Katerere, D. R. (2010). Actividad antifúngica de cuatro extractos de plantas de malezas contra hongos micotoxigénicos seleccionados. *Revista de microbiología aplicada*, 109(4), 1479-1486.

Tobón, F.A. (2011). Actividad insecticida de un extracto de hierba *Melinis minutiflora* sobre la mosca *Stomoxys calcitrans*. *Revista colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24(2), 123-130.

Torres, L.M.R., Huanca, B.R. y Quispe, L.S. (2021). Actividad insecticida del aceite esencial de Pampa Anís (*Tagetes filifolia* Lag.) sobre el gorgojo del maíz (*Pagiocerus frontalis*). *Revista de Investigaciones de la Escuela de Posgrado de la UNA PUNO*, 10(3), 186-197.

Torres-Martínez, R., Bello-González, M.A., Molina-Torres, J., Ramírez-Chávez, E., García-Rodríguez, Y., Fulgencio-Negrete, R. y Salgado-Garciglia, R. (2014). Efecto de la fertilización sobre el crecimiento y contenido de compuestos volátiles en *Satureja macrostema* (Benth) Briq. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 5(21), 122-134.

Torres-Martínez, R., Moreno-León, A., García-Rodríguez, Y. M., Hernández-Delgado, T., Delgado-Lamas, G., y Espinosa-García, F. J. (2022). *Tagetes lucida* Cav. essential oil and the mixture of its main compounds are antibacterial and

modulate antibiotic resistance in multi-resistant pathogenic bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 75(2), 210-223.

Turrent, A. (2008). Transgénicos amenazan la biodiversidad del maíz nativo. *La Jornada del Campo*, 7.

Valdez-Torres, J.B., Soto-Landeros, F., Osuna-Enciso, T. y Báez-Sañudo, M.A. (2012). Modelos de predicción fenológica para maíz blanco (*Zea mays* L.) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* JE Smith). *Agrociencia*, 46(4), 399-410.

Van Driesche, R.G., Hoddle, M.S. y Center, T.D. (2007). Uso de patógenos de artrópodos como plaguicidas. *Control de plagas y malezas por enemigos Naturales*, 443-466.

Vanegas, L.E.G. (2019). Actividad de extractos de vaina *Acaciella angustissima* (Fabaceae) contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), p. 52.

Vargas, R., Olivares, N. y Ubillo, A. (2008). Manejo Integrado de Resistencia (MIR) y selectividad de plaguicidas. *Ripa, R. y Larral, P. Manejo de Plagas en Paltos y Cítricos. INIA La Cruz*, p. 80-84.

Vega, C. Z., Moraga, J. P. y Carvajal, E. H. (2009). Abordando la problemática del Dengue desde una perspectiva ambiental. *Tecnología en Marcha*, 22(1), 81-89

Villanueva-Segura, O.K., Ontiveros-Zapata, K.A., Lopez-Monroy, B., Ponce-Garcia, G., Gutierrez-Rodriguez, S.M., Davila-Barboza, J.A. y Flores, A.E. (2020). Distribution and frequency of the kdr mutation V410L in natural populations of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) from eastern and southern Mexico. *Journal of medical entomology*, 57(1), 218-223.

Villegas-Mendoza, J.M., Sánchez-Varela, A., y Rosas-García, N.M. (2015). Caracterización de una especie de *Meteorus* (Hymenoptera: Braconidae) presente en larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en el Norte de Tamaulipas, México. *Southwestern Entomologist*, 40(1), 161-170.

Whelan, C. J. y Cunningham, J. J. (2020). Resistance is not the end: lessons from pest management. *Cancer Control*, 27(1), 1073274820922543.

White-Olascoaga, L., Zepeda-Gómez, C., García-Mondragón, D., Gutiérrez-Cedillo, J. G. y Sabas Chávez, C. (2018) Estudio etnobotánico de *Tagetes lucida* Cav. (Asteraceae) en el Estado de México. 193 p.

Wilson, C. y C. Tisdell (2001). "¿Por qué los agricultores continúan usando pesticidas a pesar de los costos ambientales, de salud y de sostenibilidad?" *Economía Ecológica*, 39, 449-462.

Xu, L.W., Juan, C.H.E.N., Qi, H.Y. y SHI, Y.P. (2012). Phytochemicals and their biological activities of plants in *Tagetes* L. *Chinese Herbal Medicines*, 4(2), 103-117.

Zeidler, O. (1874). I. Verbindungen von Chloral mit Brom-und Chlorbenzol. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 7(2), 1180-1181.

Zepeda-Jazo, I. (2018). Manejo sustentable de plagas agrícolas en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 15(1), 99-108.

Zhou, H., Wan, F., Guo, F., Liu, J. y Ding, W. (2022). High value-added application of a renewable bioresource as acaricide: Investigation the mechanism of action of scoparone against *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Advanced Research*, 38, 29-39.