

MAESTRÍA EN INGENIERÍA AMBIENTAL Y TECNOLOGÍAS SUSTENTABLES



“Estudio del potencial insecticida del epazote (*Dysphania ambrosioides*)
para el control sustentable del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*)

J. E. SMITH”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

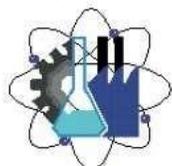
MAESTRO EN INGENIERÍA AMBIENTAL Y TECNOLOGÍAS SUSTENTABLES

PRESENTA:

BIOL. BLANCA PERLA CHÁVEZ RÍOS

ASESORA: DRA. MARÍA GUADALUPE VALLADARES CISNEROS

CO-ASESORA: M. EN C. MIRNA GUTIERREZ OCHOA



CÓMITE REVISOR:

DRA. MARÍA GUADALUPE VALLADARES CISNEROS

M. EN C. MIRNA GUTIERREZ OCHOA

DRA. AVE MARÍA COTERO VILLEGAS

DR. RODOLFO FIGUEROA BRITO

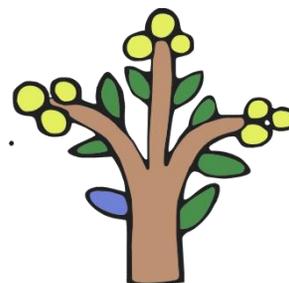
DR. JESÚS MARIO COLÍN DE LA CRUZ

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó en el Laboratorio de Productos Fitoquímicos Bioactivos de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la asesoría de la Dra. María Guadalupe Valladares Cisneros y en el laboratorio de Entomología del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional con la co-asesoría de la M.C. Mirna Gutiérrez Ochoa, con el apoyo financiero del Programa de Becas Nacionales de Posgrado otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



HOJA DE VOTOS APROBATORIOS



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS e INGENIERÍA
Programas educativos de calidad reconocidos por CIEES y CACEI
Certificada en la norma ISO 9000:2008

Maestría en Ingeniería Ambiental y Tecnologías Sustentables.

Cuernavaca, Morelos, a 2 de septiembre del 2019.

NOMBRAMIENTO DE COMISIÓN REVISORA Y DICTAMEN DE REVISIÓN (T-2)

Dra. María Guadalupe Valladares Cisneros.
M.C. Mima Gutiérrez Ochoa.
Dra. Ave María Cotero Villegas.
Dr. Rodolfo Figueroa Brito.
Dr. Jesús Mario Colín de la Cruz.

PRESENTE.

Por este conducto, me permito informarle que ha sido asignado como integrante de la Comisión Revisora de la tesis que presenta la Biól. Chávez Rios Blanca Perla titulada: "Estudio del potencial insecticida del epazote (*Dysphania ambrosioides*) para el control sustentable del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) J.E. Smith" realizada bajo la dirección de la Dra. María Guadalupe Valladares Cisneros en el Programa Educativo de Maestría en Ingeniería Ambiental y Tecnologías Sustentables. Agradezco su valiosa participación en esta Comisión y quedo a sus órdenes para cualquier aclaración o duda al respecto.

ATENTAMENTE

"Por una humanidad culta"

Machin
Dra. Constanza Machín Ramírez.
Coordinadora de la MIATS.

FCQel - UAEM



Dra. Constanza Machín Ramírez.
Coordinadora de la MIATS.

PRESENTE.

En respuesta a su amable solicitud para formar parte de la Comisión Revisora de la tesis mencionada, en esta vez realizada la revisión correspondiente, me permito informarle que mi VOTO es:

DICTAMEN

NOMBRE	VOTO	FIRMA
Dra. María Guadalupe Valladares Cisneros.	APROBATORIO	<i>[Firma]</i>
M.C. Mirna Gutiérrez Ochoa.	APROBATORIO	<i>[Firma]</i>
Dra. Ave María Cotero Villegas.	APROBATORIO	<i>[Firma]</i>
Dr. Rodolfo Figueroa Brito.	APROBATORIO	<i>[Firma]</i>
Dr. Jesús Mario Colín de la Cruz.	APROBATORIO	<i>[Firma]</i>

c.c.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.
Tel. (777) 329 70 00, Ext. 3297. e-mail: miats.fcqei@uaem.mx

UAEM

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

AGRADECIMIENTOS

Le dedico el presente trabajo a mí madre Matilde Ríos Laurel y a mí padre Jesús Chávez Olascoaga. Gracias por darme la vida, por amarme, apoyarme incondicionalmente y estar a mí lado siempre. Los amo. Éste logro también es de ustedes.

A mí hermano Mario Eduardo Chávez Ríos, gracias por existir y por darle tanta alegría a mí vida. Te amo, sin ti no sería la persona que hoy soy.

A Peluchin, mí mascota amada, por siempre darme todo su amor y su compañía.

A mis abuelos, tíos y primos, gracias por estar siempre presentes, además de estar pendientes y darme ánimo durante ésta etapa.

A Joshua, José, Adolfo, Ricardo y Brenda, por brindarme su sincera amistad y cariño durante todos estos años.

A mis compañeros de la MIATS, por todos los buenos momentos juntos y en especial a Rebecca, Ian y Brenda por brindarme su amistad.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A mí asesora, la Dra. María Guadalupe Valladares Cisneros y mí co-asesora, la M. en C. Mirna Gutiérrez Ochoa por aceptarme como su alumna; por su guía y paciencia durante ésta etapa de mí formación. Les agradezco por todo el aprendizaje en los respectivos laboratorios y por los conocimientos que adquirí a su lado y que llevaré conmigo siempre. Gracias por impulsarme a crecer, por su cariño y por el apoyo brindado tanto en lo académico como en lo personal.

A mí asesora, por la confianza y facilidades otorgadas para todo el proceso de elaboración de los fitoextractos orgánicos y realización de los análisis fitoquímicos, así como la redacción de mí escrito de tesis en el Laboratorio de Productos Fitoquímicos Biactivos de la FCQeI, UAEM. Al M. en C. Germán Díaz Chávez por la guía y ayuda en la realización de los análisis fitoquímicos.

Al personal y estudiantes del laboratorio de entomología del CeProBi del IPN, por las facilidades y orientación otorgadas para realizar parte de este proyecto. Le agradezco a mí co-asesora por recibirme en el laboratorio, guiarme y orientarme en cada paso de la realización de los bioensayos. A la M. en C. Lucila Aldana Llanos por la orientación conjunta para la realización de los bioensayos, al M. en C. Margarito Herrera por su ayuda en todo respecto a la colecta de larvas. Al Dr. Rodolfo Figueroa Brito por ser parte de mí comité tutorial y las aportaciones hechas a mí escrito y al Dr. Néstor Hernández Silva por orientarme en la parte estadística. Así como a la M. en C. María Candelaria Hernández Reyes y a los antes mencionados por recibirme como en casa y hacer muy agradable mí estancia en el laboratorio.

A la Dra. Ave María Coteró Villegas y el Dr. Mario Jesús Colín de la Cruz por ser parte de mi comité tutorial y sus valiosas aportaciones al escrito.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por formarme como profesional; inicialmente como Bióloga en la FCB y a la Maestría en Ingeniería y Tecnologías Sustentables de la FCQeI por formarme como Maestra.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	XII
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
RESUMEN	XIV
ABSTRACT	XVI
INTRODUCCIÓN.....	XVIII
CAPÍTULO 1	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.1.1. Gusano cogollero (<i>Spodoptera frugiperda</i>) J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae)	1
1.1.1.1. Clasificación taxonómica.....	2
1.1.1.2. Ciclo de vida de <i>Spodoptera frugiperda</i>	3
1.1.2. Control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
1.1.2.1. Control de <i>Spodoptera frugiperda</i> con insecticidas sintéticos.....	7
1.1.2.2. Controladores biológicos de <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
1.1.3. <i>Dysphania ambrosioides</i> (epazote).....	8
1.1.3.1. Clasificación taxonómica.....	9
1.1.3.2. Descripción botánica de <i>Dysphania ambrosioides</i>	9
1.1.3.3. Distribución geográfica de <i>Dysphania ambrosioides</i>	10

1.1.3.4.	Usos de <i>Dysphania ambrosioides</i>	11
1.1.3.5.	Fitoquímica y farmacología de <i>Dysphania ambrosioides</i>	11
1.1.3.5.1.	Principales metabolitos secundarios presentes en <i>Dysphania ambrosioides</i> ..	12
1.2.1.	Agricultura y Agrobiodiversidad.....	14
1.2.2.	Interacción planta-insecto	15
1.2.3.	Plaguicidas	16
1.2.3.1.	Evolución de los plaguicidas.....	16
1.2.3.2.	Legislación del uso de plaguicidas en México.....	17
1.2.3.3.	Consecuencias del uso de plaguicidas.....	18
1.2.4.	Insecticidas botánicos.....	20
1.2.5.	Estudios sobre especies vegetales contra <i>Spodoptera frugiperda</i> en México	21
1.2.6.	Estudios de <i>Dysphania ambrosioides</i> sobre insectos plaga.....	25
1.2.6.1.	<i>Dysphania ambrosioides</i> sobre lepidópteros plaga	25
1.2.6.2.	<i>Dysphania ambrosioides</i> sobre coleópteros de granos almacenados.....	27
1.2.6.3.	<i>Dysphania ambrosioides</i> sobre dípteros.....	27
1.2.7.	Efecto de <i>Dysphania ambrosioides</i> en mamíferos de laboratorio	27
1.2.8.	Actividad biológica de productos naturales en insectos.....	28
1.2.9.	Técnicas analíticas para identificación de productos naturales.....	29

1.2.9.1.	Espectroscopía infrarroja	29
1.2.9.2.	Análisis cualitativo de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina (TLC).....	30
CAPÍTULO 2	32
2.1.	Justificación.....	32
2.2.	Objetivo general.....	33
2.3.	Objetivos específicos.....	33
CAPÍTULO 3	34
3.1.	Material y métodos	34
3.1.1.	Obtención de extractos orgánicos de <i>Dysphania ambrosioides</i>	34
3.1.2.	Cría de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	35
3.1.3.	Preparación de la dieta artificial	36
3.1.4.	Diseño experimental	37
3.1.5.	Bioensayo en laboratorio	38
3.1.5.1.	Primer bioensayo	38
3.1.5.2.	Segundo bioensayo	39
3.1.6.	Caracterización química del fitoextracto bioactivo	39
3.1.6.1.	Espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)	40
3.1.6.2.	Cromatografía en capa fina	40

3.1.6.2.1.	Visualización de los fitocompuestos	41
CAPÍTULO 4	42
4.1.	Resultados y discusión	42
4.1.1.	Recuperación de los fitoextractos.....	42
4.1.2.	Actividad insecticida de <i>Dysphania ambrosioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> ...	44
4.1.2.1.	Determinación de la actividad insecticida de extractos orgánicos de <i>Dysphania ambrosioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>.....	44
4.1.2.2.	Determinación de la actividad insecticida del fitoextracto activo de <i>Dysphania ambrosioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>.....	46
4.1.2.2.1.	Deformaciones en las pupas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	49
4.1.2.2.2.	Deformaciones en adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i>.....	51
4.1.3.	Análisis químico del fitoextracto activo de <i>Dysphania ambrosioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>.....	53
4.1.3.1.	Espectroscopía de infrarrojo acoplada a transformada de Fourier del fitoextracto activo de <i>Dysphania ambrosioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	53
4.1.3.2.	Cromatografía en capa fina (TLC) del fitoextracto activo de <i>Dysphania ambrosioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	55
4.1.3.2.1.	Revelado físico (Luz ultravioleta).....	56
4.1.3.2.2.	Revelador químico (sulfato cérico amoniacal)	57
CAPÍTULO 5	60

5.1. Conclusiones	60
5.2. Perspectivas	61
REFERENCIAS	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Insecticidas químicos utilizados actualmente para el control de <i>S. frugiperda</i>	8
Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas químico orgánico sintéticos	18
Tabla 3. Vibraciones características de grupos funcionales por espectroscopía infrarroja	29
Tabla 4. Ingredientes utilizados en la dieta artificial (250 g)	36
Tabla 5. Tratamientos utilizados para evaluar la actividad de los fitoextractos orgánicos de <i>D. ambrosioides</i> verde y morado sobre <i>S. frugiperda</i> en condiciones de laboratorio	38
Tabla 6. Porcentajes de recuperación de los fitoextractos de <i>D. ambrosioides</i>	43
Tabla 7. Fitoextractos de <i>D. ambrosioides</i> que lograron ser solubilizados en la dieta merídica para su evaluación insecticida	44
Tabla 8. Peso de larvas y pupas de <i>S. frugiperda</i> sobrevivientes a los 7 y 14 días de tratamiento con fitoextractos de <i>D. ambrosioides</i> a 500 ppm.	45
Tabla 9. Mortalidad de larvas y pupas de <i>S. frugiperda</i> con fitoextractos de <i>D. ambrosioides</i>	46
Tabla 10. Bioactividad del fitoextracto metanólico de las partes aéreas de <i>D. ambrosioides</i> sobre <i>S. frugiperda</i>	47
Tabla 11. Porcentajes de mortalidad de larvas, pupas de <i>S. frugiperda</i> y mortalidad total tratados con extracto metanólico de partes aéreas de <i>D. ambrosioides</i> verde a 125, 250, 500 y 750 ppm, incorporados en una dieta merídica.....	48
Tabla 12. Vibraciones observadas en el IR-FT del fitoextracto metanólico de las hojas de <i>D. ambrosioides</i> verde y grupos funcionales asignables.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Larva de <i>Spodoptera frugiperda</i>	2
Figura 2. Ciclo de vida del <i>Spodoptera frugiperda</i> en América Latina.....	4
Figura 3. Hojas y tallos de <i>Dysphania ambrosioides</i>	9
Figura 4. Diferentes metabolitos hallados en la familia Chenopodiaceae	12
Figura 5. Ejemplos de placas cromatográficas con compuestos naturales. A. Terpenoides, placa revelada con reactivo de Liebermand. (B). Flavonoides, placa revelada con cloruro de aluminio....	31
Figura 6. Obtención y recuperación de fitoextractos de <i>Dysphania ambrosioides</i>	34
Figura 7. Obtención de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	36
Figura 8. Espectrómetro de IR, Bruker ALPHA.....	40
Figura 9. Pupas deformes con diferentes concentraciones del fitoextracto metanólico de las hojas de <i>D. ambrosioides</i> verde.....	50
Figura 10. Adultos deformes de <i>S. frugiperda</i> tratados con diferentes concentraciones del fitoextracto metanólico de las hojas de <i>D. ambrosioides</i> verde.....	52
Figura 11. Espectro de IR-FT del fitoextracto metanólico de las partes aéreas de <i>D. ambrosioides</i> verde	54
Figura 12. TLC de fitoextracto activo de <i>D. ambrosioides</i> en contra de <i>S. frugiperda</i> , revelada con luz UV. (a) luz UV a 320 nm y (b) luz UV a 280 nm.	57
Figura 13. TLC de fitoextracto activo de <i>D. ambrosioides</i> en contra de <i>S. frugiperda</i> , revelada con sulfato cérico amoniacal y calor	58

RESUMEN

Spodoptera frugiperda J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) comúnmente conocida como gusano cogollero del maíz; es una de las principales plagas del maíz; actualmente se ha registrado que éste insecto ataca muchos otros cultivos de gran importancia económica como hortalizas y leguminosas. Por lo que hoy en día *S. frugiperda* es considerada una plaga polífaga, por lo cual se deben acrecentar los esfuerzos para establecer medidas sustentables para su control.

Este trabajo se orientó a determinar la actividad insecticida de *Dysphania ambrosioides* (nombre común: Epazote; Sinonimia: *Chenopodium ambrosioides*) verde y morado; a nivel laboratorio utilizando *S. frugiperda*.

Derivado de las evaluaciones se logró determinar que el fitoextracto metanólico de las partes aéreas (hojas y tallos) de *D. ambrosioides* verde mostro la mayor actividad insecticida contra *S. frugiperda*. El empleo de 500 ppm del fitoextracto produjo una mortalidad corregida superior al 34 % en larvas y del 54 % en pupas. El extracto que presentó efectividad se probó en una segunda evaluación a 125, 250, 500 y 750 ppm. Este extracto generó un reducción significativa del peso larval con respecto al testigo; impidiendo el desarrollo correcto de las pupas y los adultos; provocando un 24 % de pupas deformes y el 12 % de los adultos que emergieron posteriormente mostraron deformaciones en las alas.

A través de cromatografía en capa fina y espectroscopia de infrarrojo, se logró distinguir que el fitoextracto activo contiene compuestos naturales que en su estructura química están presentes

grupos funcionales característicos de hidroxilo, alcoholes secundarios y sistemas aromáticos que presentan dobles enlaces conjugados; estos grupos funcionales frecuentemente se presentan en flavonoides, taninos y terpenos.

Este trabajo permitió comprobar el potencial fitoinsecticida de las partes aéreas (hojas y tallos) de *Dysphania ambrosioides* verde contra *S. frugiperda* a nivel laboratorio, como propuesta sustentable para su control.

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) commonly known as fall army worm is one of the main pests of corn; Currently it has been recorded that this insect attacks many other crops of great economic importance such as vegetables and legumes. Therefore, today *S. frugiperda* is considered a polyphagous pest, so efforts to establish sustainable measures for its control must be increased.

This work was oriented to determine the insecticidal activity of green and purple *Dysphania ambrosioides* (common name: Epazote; Synonymy: *Chenopodium ambrosioides*); at laboratory level using *S. frugiperda*.

Derived from the bioassays, it was determined that the methanolic phytoextract of the aerial parts (leaves and stems) of green *D. ambrosioides* showed the greatest insecticidal activity against *S. frugiperda*. The use of 500 ppm of the phytoextract produced a mortality of more than 34 % in larvae and 54 % in pupae. The phytoextract that showed effectiveness was tested in a second evaluation at 125, 250, 500 and 750 ppm. Likewise, it generated a significant reduction of larvae weight with respect to the control; preventing the correct development of pupae and adults; causing 24 % of deformed pupae and 12 % of the adults that emerged later showed deformations in the wings.

Through thin layer chromatography and infrared spectroscopy, it was possible to distinguish that the active phytoextract contains natural compounds, and in their chemical structures are present characteristic functional groups such as hydroxyl of secondary alcohols and aromatic systems that

have conjugated double bonds; these functional groups frequently occur in flavonoids, tannins and terpenes.

This work allowed to verify the phytoinsecticide potential of the aerial parts (leaves and stems) of green *Dysphania ambrosioides* against *S. frugiperda* at laboratory level, as a sustainable proposal for its control.

INTRODUCCIÓN

El gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga nativa del continente americano, sin embargo actualmente se han dado registros de su existencia en algunos países de África y Europa. *S. frugiperda* es la principal plaga del maíz, aunque ataca de igual forma muchos otros cultivos de gran importancia económica principalmente las gramíneas (Poaceae). Considerada *S. frugiperda* una plaga polígafa, se debe mejorar y acrecentar las medidas para su control en campo (González *et al.*, 2015).

El gusano cogollero es combatido con insecticidas químicos, muchos de los cuales causan efectos nocivos a la salud del ser humano y fauna, afectando principalmente a abejas; presentan permanencia prolongada en el medio ambiente, principalmente en suelo y cuerpos de agua afectando a peces e invertebrados acuáticos.

Se estima que *S. frugiperda* como plaga en México causa un 50 % de pérdidas en los cultivos del maíz (Blanco *et al.*, 2014). Debido al uso indiscriminado y excesivo de los insecticidas químicos ha provocado que muchas plagas desarrollen resistencia química, y el gusano cogollero no es la excepción, el desarrollo de resistencia química. Por lo que en los últimos años se han incrementado los esfuerzos en la búsqueda de alternativas amigables con el ambiente para coadyuvar en el combate de plagas, una de estas es el control con insecticidas botánicos. Una de las principales ventajas de los insecticidas botánicos, radica en su biodegradabilidad; por lo que su permanencia en el ambiente suele ser por periodos cortos.

En este sentido se inserta la presente investigación por lo que se propuso estudiar la actividad insecticida a nivel laboratorio de *Dysphania ambrosioides* (Chenopodiaceae, Sinonimia: *Chenopodium ambrosioides*) en contra de *Spodoptera frugiperda*. Esta especie se caracteriza por no presentar plagas insectiles y fúngicas por su alto contenido de aceite esencial, es más propensa a presentar malezas. El potencial del epazote ha sido evaluado para el combate de diferentes plagas agrícolas, por ejemplo, plagas que atacan granos almacenados y también plagas que atacan a los cultivos (Tagliari *et al.*, 2010; Knaak *et al.*, 2012; Vázquez *et al.*, 2015).

En este trabajo de investigación se muestra el estudio sistemático de la evaluación biológica de diversos fitoextractos orgánicos de *D. ambrosioides* verde y morado en contra de *S. frugiperda*. Los resultados muestran que *D. ambrosioides* tiene potencial como fitoinsecticida para controlar eficientemente a *S. frugiperda* en sus diferentes estadios

CAPÍTULO 1

1.1. Antecedentes

1.1.1. Gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae)

Spodoptera frugiperda cuyo nombre común es gusano cogollero, es un insecto plaga nativo del continente Americano. Es un insecto polífago que en su estado larval exhibe hábitos fitófagos¹. En la época de los noventas se reportó que *S. frugiperda* como insecto plaga, atacaba 80 especies de 23 familias de plantas, al paso del tiempo la cifra de plantas hospederas del gusano cogollero ha aumentado significativamente en el continente Americano, ya que, se encuentra presente en 186 especies vegetales de 42 familias de plantas, siendo la más afectada la familia Poaceae (Cazmuz, 2010), donde se encuentran plantas básicas para la dieta humana, cómo maíz, sorgo y trigo. Si bien son varias las plantas hospederas de *S. frugiperda*, esta plaga tiene cierta preferencia para ovipositar en el cogollo del maíz y alimentarse de la planta (Jaramillo *et al.*, 1989), porque selecciona hojas y brotes tiernos para alimentarse. Esta plaga provoca diferentes niveles de daño en los cultivos (Álvarez, 1991; Murillo, 1991).

En México, el gusano cogollero es una plaga que puede llegar a causar pérdidas económicas hasta del 50 % en el rendimiento del cultivo del maíz (Blanco *et al.*, 2014). En México se localiza principalmente en zonas cálidas. Los estados del país con mayor producción de maíz son Sinaloa (22 %), Jalisco (14 %), Estado de México (8 %), Michoacán (7 %), Guanajuato (6 %), Guerrero (5 %),

¹ Que se alimenta de materias vegetales.

Veracruz (5 %), Chiapas (5 %), Chihuahua (4 %), Puebla (4 %) y los demás estados representan el 20 % restante (Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios, 2018).



Figura 1. Larva² de *Spodoptera frugiperda*

1.1.1.1. Clasificación taxonómica

El gusano cogollero pertenece a la familia Noctuidae; mariposas con alas grandes, fuertes y recubiertas de una gran cantidad de escamas. Los adultos de esta familia generalmente realizan sus diferentes actividades básicas durante la noche, porque poseen hábitos nocturnos³. La clasificación taxonómica del gusano cogollero es la siguiente (Fernández, 1994).

² Animal que se encuentra en la primera etapa del desarrollo pos embrionario de los animales que experimentan desarrollo indirecto.

³ Que busca su alimento y desarrolla sus principales actividades durante la noche.

Reino: *Animalia*

Phylum: *Arthropoda*

Clase: *Insecta*

Orden: *Lepidoptera*

Familia: *Noctuidae*

Género: *Spodoptera*

Especie: *Spodoptera frugiperda*

1.1.1.2. Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*

S. frugiperda es un insecto con metamorfosis completa u holometabolo, su ciclo de vida en Latinoamérica (Figura 2) comprende cuatro estados biológicos y seis estadios larvales y tiene una duración aproximada de entre 24 a 40 días (FAO, 2017).

Este insecto permanece entre tres a cinco días como huevecillo, estos miden aproximadamente 0.5 mm de diámetro tienen forma esférica, son un poco aplanados en la parte superior y su superficie externa está estriada radicalmente. El color de estos es blanco amarillento, presentan brillo nacarado cuando están recién puestos, se tornan de un color gris rojizo cuando las larvas van a eclosionar. Son depositados en grupos compactos formando varias capas generalmente de cien o más huevos individuales, cubiertos por una especie de telaraña compuesta por secreciones de la hembra y escamas de su cuerpo, la cual parece proporcionarles cierta protección contra algunos agentes bióticos y abióticos (Capinera, 1999).

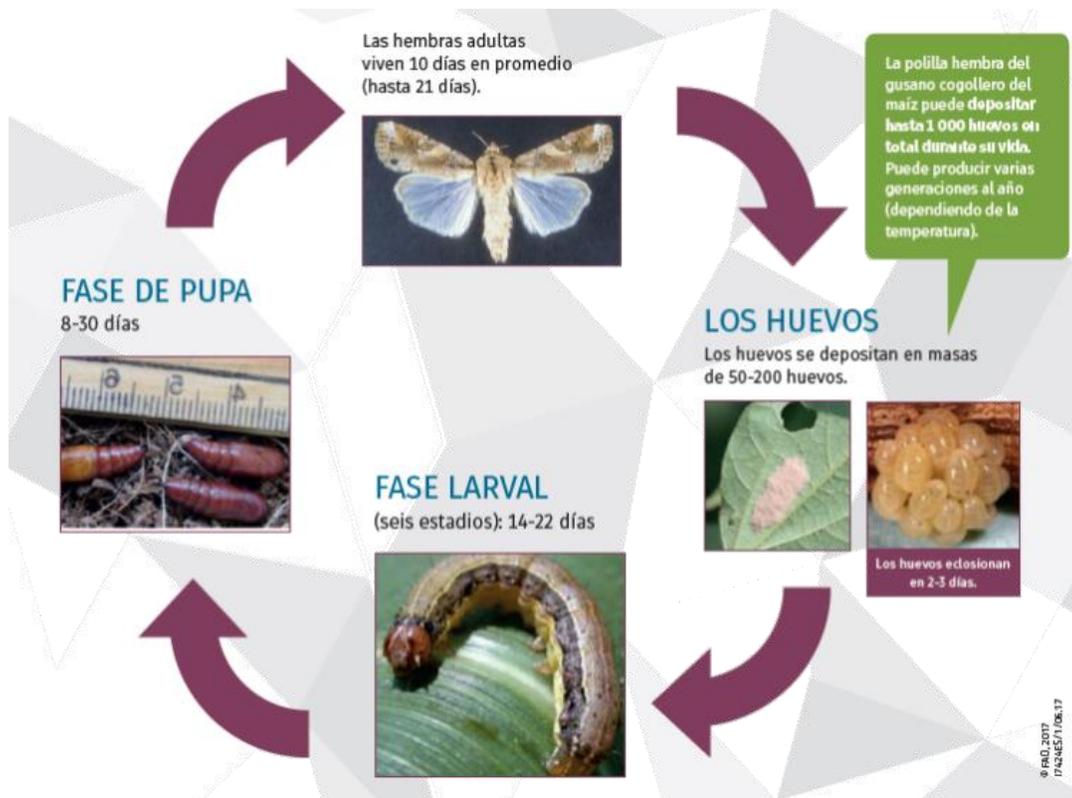


Figura 2. Ciclo de vida del *Spodoptera frugiperda* en América Latina
(Fuente: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2017)

El insecto permanece entre 14 a 22 días como larva, el primer alimento de estas al eclosionar es el corión del huevo⁴. Recién eclosionadas miden aproximadamente 1.5 mm de largo, de color blanquecino, con cabeza negra y prominente, el cuerpo está cubierto de pelos finos. Presentan una coloración variable conforme avanza el desarrollo, que va del color verdoso hasta gris oscuro. La coloración también depende del alimento que ingieren. En su posición dorsal, puede distinguirse una faja media longitudinal de color café oscuro, y un par de franjas laterales de color café más claro a

⁴ Cuerpo redondo u ovalado, con una membrana o cáscara exterior, que ponen las hembras de algunos animales y que contiene en su interior el embrión de un nuevo ser y el alimento necesario para que crezca.

ambos lados de la anterior. Presentan un escudo cervical café oscuro; la cabeza es de color café amarillento, más estrecha que el cuerpo, y presenta la sutura epicraneal muy destacada y en forma de Y invertida. (García *et al.* 2012).

En su máximo desarrollo alcanza 34 a 44 mm de longitud; en esta especie se presentan seis a siete instares larvales y se observan hábitos canibalistas entre ellas y con respecto a un gran número de larvas de otras especies, después del tercer estadio. Las larvas que emergen durante los primeros 30 días de edad de la planta son las que ocasionan mayor daño en el cultivo. Por lo que las orugas que provienen de huevecillos puestos en los primeros cinco días de edad de la planta de maíz causan la defoliación completa y además daña el meristema apical en desarrollo, generalmente no permanecen en el cogollo durante toda su vida larvaria, si no que antes de madurar descienden al suelo y dañan el cuello de la planta causándole la muerte. El daño que provocan es muy evidente ya que las hojas se observan rasgadas y con abundantes excrementos (Willink *et al.*, 1993a y 1993 b). Cuando las larvas buscan las plantas, penetran verticalmente el cogollo, donde permanecen ocultas hasta que bajan al suelo para pupar.

Las larvas se entierran aproximadamente 2,5 cm bajo el suelo, donde realiza una galería de unos siete centímetros de largo, al final de la cual forma su celda pupal, acorta sus segmentos, muda por última vez y se convierte en pupa.

El estado pupal tiene una duración de 7 a 13 días, la pupa⁵ del gusano cogollero es obtecta, de aproximadamente de 18 mm de longitud, color café oscuro, lisa y brillante; el cremáster está constituido por dos espinas pequeñas en forma de “V” invertida (Capinera,1999).

Después de su emergencia, el insecto adulto permanece entre 10 y12 días como palomilla. En ese estado biológico el aspecto del insecto es variable; entre 30 a 35 mm de longitud alar, tórax y abdomen pubescentes y de color ceniciento, las antenas son filiformes. Ambos sexos son fácilmente atraídos hacia la luz. Las palomillas tienen un período precopulatorio de 1 o 2 días, y otro de preoviposición de cerca de dos días. Las condiciones apropiadas para el desarrollo del insecto deben ser a través de un ambiente cálido, húmedo y lluvioso (Capinera, 1999).

El macho tiene alas anteriores de color pardo oscuro, con una franja notoria en el margen externo; en la región central de cada una de ellas, cerca al margen costal, muestra un área reniforme, y paralelamente hacia el borde anal existe otra mancha elipsoidal de color claro con el centro oscuro. En el borde externo existe una mancha blanca conspicua y en cada ala se presentan otros arabescos. Las alas posteriores son blancas, pero muestran en el borde externo un ribete oscuro.

La hembra posee las alas anteriores de color gris, más homogéneas comparadas con las del macho; se observan en ellas arabescos, aunque menos conspicuos. Éstas copulan más de una vez y llegan a ovipositar en promedio, hasta 890 huevecillos.

⁵ Animal que se encuentra en la fase de desarrollo posterior a la forma de larva y anterior a la forma adulta, entre los animales que experimentan metamorfosis completa.

1.1.2. Control del *Spodoptera frugiperda*

1.1.2.1. Control de *Spodoptera frugiperda* con insecticidas sintéticos

El gusano cogollero ha sido comúnmente combatido con insecticidas sintéticos. El control del gusano cogollero en campo requiere de dos a cuatro aplicaciones de insecticidas químicos por temporada (Hruska y Gould, 1997). Tejeda *et al.*, 2016; compararon la efectividad biológica de 6 insecticidas sintéticos comerciales (LorsbanTM 480 EM, Decis® Forte, Rimon® 100 CE, Denim® 19 CE, PalgusTM y Mustang Max®) contra el gusano cogollero. Todos los insecticidas comerciales probados tuvieron efecto en *S. frugiperda* respecto al testigo. En la Tabla 1. Se muestran algunos insecticidas comerciales que son usados contra el gusano cogollero.

1.1.2.2. Controladores biológicos de *Spodoptera frugiperda*

Flores, 2000; reportó que la especie *S. frugiperda* es susceptible a 53 especies de parasitoides, de 43 géneros y 10 familias, además este insecto muestra susceptibilidad a 20 especies de entomopatógenos. La bacteria *Bacillus thuringiensis* (Berliner) es la más utilizada en el control biológico de larvas de lepidópteros y se le considera un agente de control biológico clave dentro de un programa de manejo integrado de plagas, siendo tan eficaz como los insecticidas químicos convencionales.

Tabla 1. Insecticidas químicos utilizados actualmente para el control de *S. frugiperda*

Nombre comercial Grupo químico Fórmula química	Peligros para la salud Impacto al ambiente
Cipermetrina Piretroide $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	Irritante para ojos y sistema respiratorio, en altas concentraciones. Causa dermatitis con el contacto prolongado. Si se inhala provoca dolor de cabeza, desgano, sueño e inconsciencia. Altamente tóxico para abejas, peces e invertebrados acuáticos. Es fotodegradable y se degradada por bacterias en condiciones aerobias
Arrivo200 CE Piretroide $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	Al ser inhalado o por contacto ocular produce temblores, convulsiones, pérdida de control, pérdida de coordinación e incremento de la sensibilidad al sonido. Al contacto con la piel produce ardor y comezón. Es altamente tóxico para peces y artrópodos acuáticos. Ligeramente tóxico en aves.
Exalt Spinosine	Recientemente aplicado es altamente tóxico para abejas. Moderadamente tóxico para organismos acuáticos. Muy baja toxicidad para aves.
Palgus Spinosine	Ligeramente tóxico para humanos y animales domésticos. Puede provocar irritación severa, por lo que se deberá evitar su ingestión, inhalación y contacto con la piel y ojos.
Pounce Permetrina	Es extremadamente tóxico para peces e invertebrado acuáticos, y para abejas. Se dispersa fácilmente con el viento
Aldrin Organoclorado $C_{12}H_8Cl_6$	Es volátil y su evaporación en el suelo es la principal fuente de emisión a la atmósfera, por lo que es altamente persistente. Provoca dolor de cabeza, mareos, náuseas, vómitos, convulsiones hasta el coma. Baja solubilidad en agua, alta disolución en solventes orgánicos, grasas y aceites.

1.1.3. *Dysphania ambrosioides* (epazote)

Recientemente existió una reclasificación de familia Chenopodiaceae (actualmente familia Amaranthaceae y subfamilia Chenopodioidae), entre las especies reclasificadas, se encontró la especie vegetal conocida comúnmente como epazote (Figura 3), la cual se conocía como *Chenopodium ambrosioides*, y que actualmente está clasificada como *Dysphania ambrosioides*.

La Real Academia Española de la Lengua define la palabra *epazote* de la siguiente manera (RAE, 2018): “Planta herbácea anual, de la familia de las quenopodiáceas, cuyo tallo, asurcado y muy ramoso, se levanta hasta un metro de altura. Tiene hojas lanceoladas, algo dentadas y de color verde oscuro, flores aglomeradas en racimos laxos y sencillos, y semillas, nítidas y de margen obtusa. Se toman en infusión las hojas y las flores”.

El epazote al ser una planta con gran contenido de aceites esenciales, que no es propenso a enfermedades por hongos o a sufrir el ataque de plagas insectiles, en cambio es propenso a presentar malezas.



Figura 3. Hojas y tallos de *Dysphania ambrosioides*

1.1.3.1. Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

Phylum: Tracheophyta

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Carophyllales*

Familia: *Amaranthaceae*

Subfamilia: *Chenopodioidae*

Género: *Dysphania*

Especie: *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosakyn & Clemants

1.1.3.2. Descripción botánica de *Dysphania ambrosioides*

Según Rzedowski (2001) el epazote tiene las siguientes características:

1. Hábito y forma de vida: Planta erguida o ascendente, glandulosa.

2. Tamaño: De 40 a 1 m de alto.

3. Tallo: Simple o ramificado.

4. Hojas: Pecioladas, oblongas a lanceoladas, de tres a diez centímetros de largo por uno a cinco centímetros de ancho, gradualmente reducidas hacia la parte superior, subenteras o sinuadodentadas.

5. Inflorescencia: En forma de espiga con numerosas flores, dispuestas en panícula piramidal.

6. Flores: Sésiles, dispuestas en panícula piramidal, con o sin hojas interpuestas; perianto de 1 mm de largo, glanduloso.

7. Frutos y semillas: El fruto es circular de casi 1 mm de ancho, envuelto por el perianto, pericarpio delgado que se desprende fácilmente, glanduloso. La semilla es de unos 0.7 mm de diámetro, con el margen obtuso, de color negro, brillante y lisa.

Las plántulas de esta especie presentan un hipocótilo cilíndrico, de 8 a 20 mm, con o sin pelos; cotiledones sésiles, lineares, de 3.5 a 13 mm de largo y 0.5 a 1 mm de ancho, sin pelos; sin epicótilo; hojas opuestas (Espinosa y Sarukhán, 1997). Esta especie se caracteriza por ser fuertemente aromática.

1.1.3.3. Distribución geográfica de *Dysphania ambrosioides*

El epazote es una planta originaria del continente americano, por lo tanto, en México, es una planta nativa. Además, se ha adaptado bien en los climas de los trópicos y templados de otros continentes.

1.1.3.4. Usos de *Dysphania ambrosioides*

El epazote es principalmente utilizado en el tratamiento de enfermedades parasitarias como ascariasis, helmintiasis y amibiasis (Osuna, Tapia y Aguilar, 2005, p.132). Igualmente es usado para otras enfermedades gastrointestinales como diarrea, disentería blanca. Para estos fines principalmente se emplean las hojas, ramas y raíz en infusión. Además del uso medicinal, los organismos de esta especie son usados en la cocina mexicana como condimento (Hernández, 2012).

1.1.3.5. Fitoquímica y farmacología de *Dysphania ambrosioides*

El género *Chenopodium* comprende aproximadamente 150 especies, y de acuerdo a la revisión realizada por Kokanova *et al.*, 2009; reportaron la presencia de fenoles (derivados del fenol: alcoholes, aldehídos y glucósidos), lignanos, cumarinas, flavonas, flavonol y sus glicósidos, flavononas e isoflavonas, catequinas y fitoesteroles (Figura 4). Con respecto a compuestos de tipos terpeno se reportan monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, carotenoides, saponinas, también se menciona la presencia de compuestos de tipo alcaloide, amida, amina y algunas vitaminas.

Diversos estudios químicos han sido realizados a especies vegetales pertenecientes a la familia *Amaranthaceae*, en lo concerniente a aceites esenciales, se han reportado una amplia variedad de flavonoides como el kaempferol (1), esteroides como el β -mirceno (2) o el geraniol (3), compuestos estrógenos tipo esteroidal (Kokanova, *et al.*, 2009), alcaloides y Cumarinas (Rizk, 1986). De las partes aéreas de *C. murale* se han reportado tres flavonoides: Kaempferol (1); herbacetina (4), quercetina (5); monoterpenos (2 y 3) y una cumarina, la escopoletina (6) (Mohammed, *et al.*, 2012).

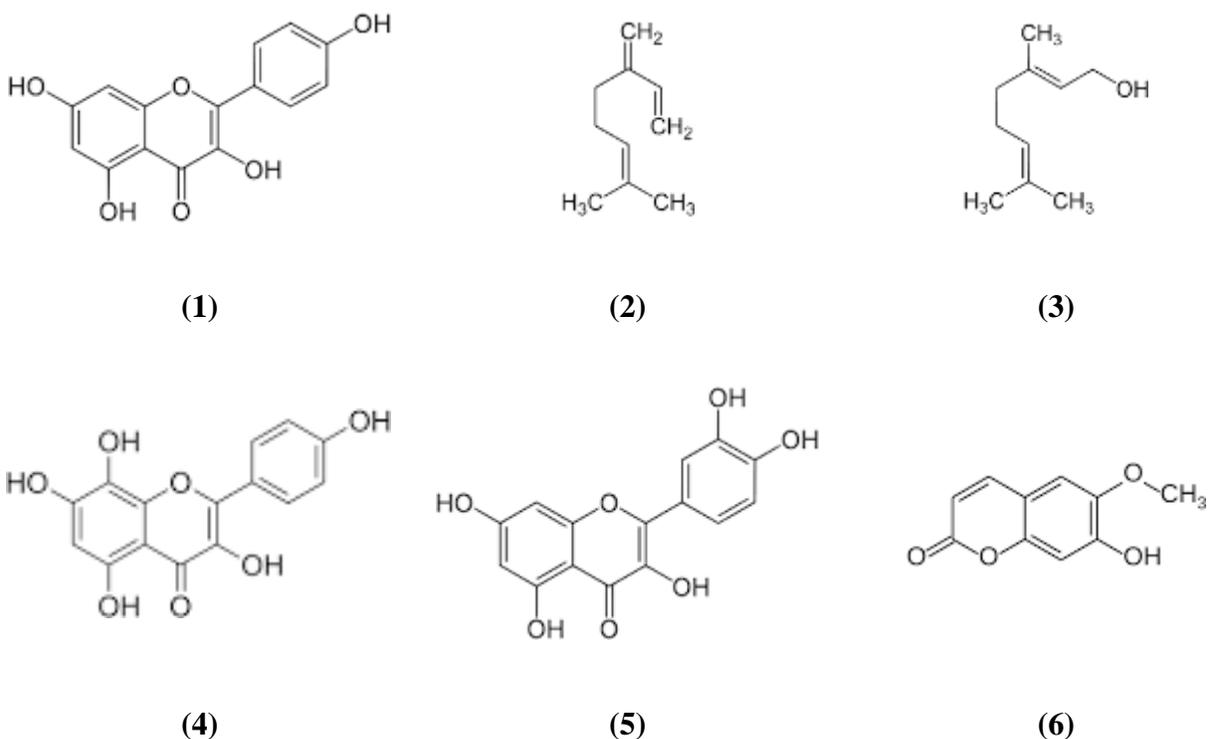


Figura 4. Diferentes metabolitos hallados en la familia Chenopodiaceae

1.1.3.5.1. Principales metabolitos secundarios presentes en *Dysphania ambrosioides*

En *Dysphania ambrosioides* se ha reportado la presencia de kaempferol y sus glicósidos, quercetina, isorhammentina, espinasterol, avenasterol, monoterpenoides como el ascaridol, geraniol, acetato de citronelilo, limoneno y diferentes monoterpenos así como sesquiterpenoides mono y bicíclicos (Kokanova *et al.* 2009).

En los diferentes órganos del epazote se han hallado diferentes metabolitos (Osuna, 2005, p.131), los cuales se enlista a continuación:

- Flor: aceite esencial, componentes fenólicos, ácidos ferúlico y vanílico.

- Fruto: kaempferol, flavona y aceites esenciales.
- Semillas: aceite esencial; saponinas; esteroides; monoterpenos; ascaridol, *p*-cimeno y otros compuestos como salicilato de metilo y limoneno.
- Hojas: ambrosido y ramnosido de kaempferol.
- Raíz: saponinas; geraniol, mirceno, alcanfor, *p*-cimeno, terpineno; ácido butírico; espinasterol y otros compuestos como urea y limoneno.

Se ha reportado que el aceite esencial del epazote contiene las siguientes sustancias (Osuna, 2005, p.131):

- Monoterpenos: ascaridol, *p*-cimeno, α -terpineno, metadino, pinocareol, metadieno, alcanfor, β -pineno y mirceno.
- Sesquiterpenos: limoneno y terpineol.
- Terpenos: betaína y santonina.
- Flavonoides: kaempferol, ramnosido y ambrosido.
- Ácidos: cítrico, tartárico, succínico y butírico.
- Saponinas, alcanos (salicilato de metilo), aceites volátiles, quenopodiosidos A y B.

En el tamizaje fitoquímico realizado a *Chenopodium ambrosioides* por Paixão *et al.* 2014, se reportó que la abundancia de compuestos correspondía a fenoles y taninos compuestos de tipo alcaloidico.

Jaramillo *et al.*, 1989; reportaron que el aceite esencial recuperado de las hojas de *C. ambrosioides* presentó mayoritariamente terpenos como α -terpineno (60,29 %), seguido de *p*-cimeno (20,49 %), 4-careno (7,96 %) y trans-ascaridol (1,91 %).

Omidbaigi *et al.*, 2005; mencionaron que el aceite esencial del epazote contiene como componentes químicos mayoritarios, terpenos como el α -felandreno (40 %), α -pineno (13.5 %), ascaridol (8.6 %), δ -3-careno (35.26 %) y pinocarvona (9.52 %).

1.2. Marco teórico

1.2.1. Agricultura y Agrobiodiversidad

Se estima que la agricultura surgió hace aproximadamente 10,000 años (Janick, 2002; Diamond, 2012) y se calcula que se han utilizado aproximadamente 7,000 especies de plantas como fuente alimentaria. Esta diversidad ha ido disminuyendo intensamente durante los últimos 50 años, ocasionando que muchas variedades locales desaparezcan. Hoy en día el 90 % de los requerimientos calóricos y de proteínas de la dieta humana se cubre con únicamente 15 tipos de cultivos de vegetales o plantas y ocho especies de animales domésticos, y la mitad de la ingesta de energía de origen vegetal proviene de tan sólo tres especies: trigo, arroz y maíz (Rapoport, 2007).

La agrobiodiversidad incluye la diversidad a nivel ecosistema, especie y genes, engloba por un lado a las especies de plantas y animales, cultivadas y domesticadas para la alimentación y otros usos, así como sus parientes silvestres. También incluye a los componentes que sostienen a los sistemas de

producción agrícola o agroecosistemas (microorganismos del suelo, depredadores, polinizadores, etc.), y a las dinámicas y complejas relaciones entre las sociedades humanas, las plantas cultivadas y los ambientes en que conviven, lo que repercute en las políticas de conservación de los ecosistemas cultivados, de promoción de la seguridad alimentaria y nutricional de las poblaciones humanas, de inclusión social y del desarrollo local sustentable (Santilli, 2017).

1.2.2. Interacción planta-insecto

Las plantas tienen interacciones ecológicas con diversos seres vivos como microorganismos como bacterias u hongos, con animales herbívoros como mamíferos e insectos. Al ser organismos que se encuentran anclados al suelo han desarrollado diferentes adaptaciones que les han permitido sobrevivir, esto ha llevado a las plantas a generar una gran diversidad fitoquímica (Harborne, 1993) En la mayoría de las plantas hay compuestos volátiles que son comunes, por ejemplo: alcoholes, aldehídos, ésteres y terpenoides (Granados *et al.*, 2008).

Las plantas logran identificar los daños producidos en ellas por ciertos insectos o depredadores y desarrollan para su protección una respuesta a través de biosintetizar sustancias químicas repelentes, para así tener un menor gasto energético en la resolución de estos procesos y enfocar la energía en otros procesos (Bryant *et al.*, 1992).

Las diferentes especies vegetales son capaces de producir metabolitos específicos para, generalmente, repeler ciertos insectos que son perjudiciales para ellas por lo que han desarrollado respuestas bioquímicas como la producción de metabolitos secundarios con actividad antioxidante, antimicrobianos o para defensa contra herbívoros (Croteau *et al.*, 2000), Así como metabolitos para

la atracción de ciertos insectos para su protección como son parasitoides o depredadores de los insectos herbívoros

Los insectos también han desarrollado estrategias bioquímicas para lograr resistencia ante los metabolitos secundarios que los afectan, por ejemplo, la detoxificación, en caso de que lleguen a ingerir partes de la planta con metabolitos que les causen daño (Granados *et al.*, 2008).

1.2.3. Plaguicidas

1.2.3.1. Evolución de los plaguicidas

Un plaguicida es toda aquella sustancia tóxica, diseñada para interferir o modificar los mecanismos fisiológicos fundamentales en invertebrados como insectos, arácnidos y también en mamíferos como por ejemplo roedores, inclusive aquellos que son compartidos por otros animales, incluido el ser humano, a quienes en determinadas circunstancias podría llegar a ocasionar la muerte (OMS, 1992; OPS/OMS, 2009).

Los primeros plaguicidas utilizados por el humano, insecticidas principalmente, eran de origen natural, es decir, estaban compuestos por elementos que se encuentran en la naturaleza, o por mezclas de estos. A partir de la segunda guerra mundial los plaguicidas naturales comenzaron a ser sustituidos por insecticidas orgánicos sintéticos. En el año de 1942 se introduce el uso del DDT (dicloro difenil tricloroetano) y en años siguientes herbicidas, entre otros compuestos organoclorados y organofosforados.

El uso de los plaguicidas sintéticos no sólo tuvo influencia en el desarrollo agrícola, también tuvo una función muy importante indirectamente para el control de enfermedades transmitidas por vectores, como el paludismo y el dengue (Mellado, 2007).

Entre los años 1960 y 1970 se introducen los fungicidas y al mismo tiempo se comienzan a observar las manifestaciones de los efectos ecotoxicológicos ocasionados por los insecticidas químico-sintéticos, iniciando el registro de estas incidencias a la salud humana. Para los años entre 1970 y 1980 se introducen la tercera generación de plaguicidas, piretroides y sulfonilureas. Para finales del siglo XX se introducen los plaguicidas ecológicos como esterilizantes y feromonas.

1.2.3.2. Legislación del uso de plaguicidas en México

En México, la legislación referente a los plaguicidas se establece en la Norma NOM- 003-STPS-1999 cuyo objetivo es establecer las condiciones de seguridad e higiene para prevenir los riesgos a los que están expuestos los trabajadores que desarrollan actividades agrícolas de almacenamiento, traslado y manejo de insumos fitosanitarios o plaguicidas e insumos de nutrición vegetal o fertilizantes. Esta Norma Oficial Mexicana está contenida en la Ley Federal del Trabajo, el vigilar el cumplimiento de esta Norma corresponde a la Secretaría del Trabajo y Previsión Social.

La Norma NOM-003-STPS-1999 además del objetivo, campo de aplicación y referencias de otras Normas de uso y seguridad de plaguicidas, contiene definiciones (glosario), las obligaciones del patrón y del personal expuesto a los plaguicidas, las condiciones de seguridad e higiene para toda acción o labor realizada con los productos utilizados. También tiene un apartado de anexos médicos previos, periódicos y de emergencia, así como de las acciones que se deben llevar a cabo en caso de

exposición aguda o intoxicación. En caso de accidente como fuga o derrame contiene una guía de referencia para las acciones a tomar. Es decir, que, esta Norma es completa en cuanto acciones preventivas y posteriores.

1.2.3.3. Consecuencias del uso de plaguicidas

Los plaguicidas son tóxicos para la fauna que se encuentra en los campos agrícolas así como para los insectos benéficos para el equilibrio de los cultivos (Dietz *et al.*, 1991). La toxicidad el ser humano se genera a través de dos vías; por encontrarse en contacto constante con estas sustancias se produce toxicidad aguda y grave principalmente para los trabajadores (irrigadores o fumigadores) o para los que los fabrican (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas químico orgánico sintéticos

Uso (OMS, 2009)	Insecticida	Fungicida	Herbicida	Nematicida
Esfera donde permanecen (OMS, 2009)	Aire	Suelo/ Subsuelo	Agua	
Vida Media (Ramírez y Lacasaña, 2001)	No persistentes	Moderadamente persistente	Persistente	Permanente
Nivel de Toxicidad (OMS, 2009)	De baja peligrosidad	Tóxicos	Nocivos	Altamente tóxicos
Vía de toxicidad (OMS, 2009)	Oral Aguda	Por inhalación	Dérmica	Crónica
Trastornos provocados (OMS, 2009 Reigart y Roberts, 1999)	Efectos cutáneos	Efectos oftalmológicos	Sistema Inmunológico	Mutagénicos Carcinogénicos Reproductivos Neurológicos

Una de las desventajas de los plaguicidas radica en que no solo son tóxicos para el organismo que se desea erradicar, sino que también son tóxicos para fauna que se encuentra en los campos

agrícolas y consume los insectos plaga o benéficos para el equilibrio de los cultivos, como los polinizadores (Dietz *et al.*, 1991). Otra desventaja de los plaguicidas es que son una fuente móvil de contaminación química en el ambiente, afectan al aire, agua y suelo; en este último como compuestos recalcitrantes que son difíciles de eliminar.

En los países en vías de desarrollo, como lo es México, no hay suficientes datos derivados de las actividades de supervisión de los plaguicidas, principalmente porque no se cuentan con los recursos económicos para realizar análisis químicos, los cuales, si se llegan a realizar, se hacen con muestras de momentos críticos del año (Ongley, 1997). Con estos análisis se construyen bases de datos, aunque con faltantes de épocas del año donde no se realizan muestreos.

El consumo de hortalizas que contengan residuos de plaguicidas produce intoxicación dependiendo de la sensibilidad del consumidor podrían tenerse efectos indeseables (Henaó *et al.*, 1993). Como consecuencia al uso continuo e irracional de los plaguicidas sintéticos se ha conducido a las plagas a generar resistencia ante estos, por lo que combatir las o controlarlas se torna cada vez más problemático, resultando en grandes pérdidas económicas.

Los daños ocasionados por las plagas a los cultivos se producen a través de afectar varios de sus órganos como son: raíces, tallos, hojas, flores, frutos y semillas, en forma parcial o total. Una vez que la plaga afecta al cultivo o planta, puede producirse la inutilización de los órganos que se desean cosechar, puede perderse la capacidad de producción, o bien puede ocurrir la destrucción total del individuo vegetal (Vázquez, *et al.*, 2015).

Sin embargo, un aspecto de suma importancia se refiere a que por el uso excesivo e inadecuado de los controladores químicos han causado en todos los lugares donde se han aplicado severos daños

ambientales. Esto ha ocurrido principalmente por desconocimiento sobre los riesgos para el ambiente que se encuentran asociados al uso de sustancias tóxicas y recalcitrantes a largo, mediano o corto plazo (Mellado, 2007).

1.2.4. Insecticidas botánicos

Con la meta de la sustentabilidad, se ha buscado estudiar y desarrollar alternativas de origen natural, que sean capaces de combatir las plagas, esperando los impactos en la salud y en el ambiente mucho menos perjudiciales o nulos (Regnault *et al*, 2005).

Los fitoinsecticidas que son preparados de especies vegetales son controladores efectivos de plagas, con menor potencial tóxico sobre insectos benéficos y para el ser humano. En comparación con los plaguicidas químicos, la principal ventaja que tienen los insecticidas botánicos es su biodegradabilidad, es decir, que no permanecen en el ambiente por largos periodos de tiempo, por lo que resultan más seguros que los equivalentes sintéticos.

Los insecticidas botánicos en su mayoría, presentan un efecto insectistático, es decir, que logran inhibir el desarrollo y comportamiento de los insectos (Rodríguez, 1996); a diferencia de los insecticidas químicos los cuales tienen un efecto biocida. Hoy en día diversos grupos de investigación alrededor del mundo, potencian esfuerzos para determinar el potencial insecticida de plantas o partes de ellas sobre diversos blancos como son insectos, hongos o bacterias que enferman a las plantas. Algunas especies vegetales que han sido estudiadas pertenecen a familias botánicas como Asteraceae, Solanaceae, Meliaceae, Lauraceae, Piperinaceae, Anonaceae, Caprifoliaceae, Fabaceae,

Tropaeolaceae, Sterculiaceae, Polypodiaceae, Tameraceae, Rutaceae, Sapindaceae, Smilacaceae, entre otras (Guzmán *et al.*, 2011).

Para la producción sustentable de un fitoinsecticida, la especie a utilizar debe ser perenne, estar ampliamente distribuida y ser abundante o ser cultivable, requerir de bajo mantenimiento, no tener un alto valor económico y ser eficaz a bajas dosis. Se debe evitar utilizar las raíces o cortezas; preferentemente deben utilizarse los diferentes órganos renovables de las plantas, como hojas, tallos, flores, semillas, los órganos no utilizados o residuos generados pueden ser utilizados en otros procesos. (Ahmed y Grainge 1986; Rodríguez, 1993).

1.2.5. Estudios sobre especies vegetales contra *Spodoptera frugiperda* en México

Céspedes *et al.*, 2000; determinaron la actividad biológica de una mezcla de epímeros de fotogedunin, gedunin y cedrelanólido, compuestos aislados del extracto de diclorometano de *Cedrela salvadorensis* y *Cedrela dugessi*, respectivamente; en contra de larvas neonatas de *S. frugiperda*; y emplearon como control positivo Toosendanin®, que es un compuesto natural activo que fue aislado de *Melia azedarach*. Demostrando que todos los compuestos que inhibieron el crecimiento larval comparados con el control.

Céspedes *et al.*, 2001; evaluaron los Argentatinidos A y B, aislados del extracto metanólico de partes aéreas de *Parthenium argentatum* (Asteraceae), en contra de larvas neonatas de *S. frugiperda*. Toosendanin®, un insecticida comercial derivado de *Melia azedarach* (Cinamomo) se usó como control positivo. Encontrando que Argentatina A, Argentatina B y extracto de metanol causaron inhibición significativa del crecimiento a los 7 días y aumentaron el tiempo de desarrollo de larvas.

Las concentraciones letales medias reportadas fueron del 17.8 ppm para Argentatina A, de 36.1 ppm para Argentatina B y de 6.4 ppm para extracto de metanol. Como se puede observar que el extracto más activo fue el de Argentatina A, y resultando como menos activo el de Argentatina B.

Pérez *et al.*, 2001; determinaron la composición de un extracto de semilla de *Carica papaya* (Caricaceae) con cloroformo por GC-MS. Se identificaron varios fitocompuestos, y los componentes de mayor concentración fueron ácido oleico (45.97 %), palmítico (24.1 %) y ácido esteárico (8.52 %). Las actividades insectistática e insecticida del extracto y los tres principales componentes fueron probados.

Céspedes *et al.*, 2005; evaluó el extracto metanólico de las raíces y partes aéreas del garambullo, *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae). El extracto metanólico mostro actividad insecticida e insectistática (regulación del desarrollo y crecimiento) contra de *S. frugiperda* y *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae). La actividad insectistática se observó a 5 y 50 ppm y los efectos insecticidas entre 50 y 300 ppm.

Franco *et al.*, 2006; evaluaron el efecto tóxico de las semillas diferentes variedades de *Carica papaya* (Caricaceae) sobre larvas de *S. frugiperda*. Los resultados mostraron que los polvos de todas las variedades de papaya estudiadas causaron mortalidad en las larvas a diferentes tiempos, concluyendo que estos polvos resultaron tóxicos porque ocasionaron una mortalidad igual o superior al 90 % en 72 h.

Bermúdez *et al.*, 2009; estudiaron la actividad insecticida en contra de larvas del gusano cogollero, de tres especies del género *Lupinus* (Fabaceae) que es una especie rica en alcaloides de

quinizolidina. Resultando ser la especie *L. stipulatus* la mayor actividad tóxica de las tres especies ensayadas.

Guzmán *et al.*, 2010; evaluaron la actividad biológica de los extractos metanólicos y de fracciones de *Ipomoea pauciflora* (Convolvulaceae) en contra el gusano cogollero. Los extractos crudos de las hojas produjeron un 46.16 % de mortalidad y reducción del peso en el tercer y quinto estadio.

Aldana *et al.*, 2010; evaluaron la actividad insecticida de extractos orgánicos de *Bursera copallifera* y *Bursera grandifolia* (Burseraceae) sobre larvas de primer estadio de *S. frugiperda*. 500 ppm del extracto acetónico de hojas de *B. copallifera* redujeron en un 50 % el peso en larvas a los 14 días y provocó un 47 % de mortalidad larval. Los extractos acetónico y metanólico de las hojas de *B. grandifolia* produjeron un 37 y un 45 % de mortalidad larval, respectivamente, a los 14 días de tiempo de desarrollo. El extracto hexánico causó una mortalidad larval del 37%, y produjo deformidad en un 44 % de las pupas, y un 14 % de adultos que emergieron mostraron deformidades.

Hernández *et al.* 2010; probaron extractos de diferente polaridad de *Ipomoea pauciflora* (Convolvulaceae). La mortalidad más alta que se produjo en larvas de *S. frugiperda* fue con 4 mg/ml de los extractos de las semillas; hexano (96.9 %) y cloroformo (93.8 %). El análisis fitoquímico reveló la presencia de ácidos grasos y aldehídos que indican que los extractos pueden inducir toxicidad letal o afectar el peso.

Ramos *et al.*, 2010; estudiaron las semillas y las hojas de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) frente a *S. frugiperda*, determinando actividades insecticidas e insectistáticas de extractos de metanol, hexano y acetato de etilo.

Salinas *et al.*, 2012; evaluaron la actividad bioinsecticida de extractos orgánicos de *Tagetes erecta* (Asteraceae) en larvas neonatas del gusano cogollero. El extracto acetónico de hojas a 500 ppm mostró un efecto antialimentario respecto a los extractos florales de esta especie ocasionando una reducción del 50 % del peso de las larvas. Los tres extractos de hoja de *T. erecta* provocaron alta mortalidad larval, con hexano (48 %), acetona (60 %) y etanol, un 72 %. Los extractos de *T. erecta* de hojas presentaron una actividad tóxica causando una mortalidad en pupas del 40 al 80 %.

Aldana *et al.*, 2012; evaluaron el efecto biológico de los extractos acetónicos y hexánicos de *Argemone mexicana* (Papaveraceae), *Allium sativum* (Amaryllidaceae) y *Castela tortuosa* (Simaroubaceae) sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*; realizando bioensayos⁶ *in vitro* a 500 ppm. Los tres extractos causaron un efecto antialimentario; corroborado a los 14 días, siendo el extracto de *C. tortuosa* el que ocasionó el peso más bajo. El extracto acetónico de *C. tortuosa* presentó actividad tóxica, causando una mortalidad en pupas del 79 %.

Ramos *et al.*, 2012 determinaron la composición del extracto hexánico de hoja de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) por cromatografía de gases- espectrometría con masas (GC-MS), mostró que los compuestos resultantes fueron ácido linolenico (47,76 %), ácido linoleico (15,28 %), ácido palmítico (13.01 %) y ácido esteárico (1.73 %). Se evaluaron las actividades insectistáticas e insecticidas de los dos componentes principales, ácido linolenico y ácido linoleico, sobre el desarrollo larval de *S. frugiperda*. La viabilidad larval media (LV₅₀) los valores de ácido linolenico y ácido linoleico fueron $0,849 \times 10^3$ ppm y $0,857 \times 10^3$ ppm, respectivamente.

⁶ Experimento científico que investiga los efectos de una sustancia en un órgano aislado o en un organismo vivo.

León *et al.*, 2013; evaluaron la actividad biológica de dos nuevos glucósidos de resina aislados de exudados de *Ipomoea murucoides* (Convolvaceae) en larvas de *S. frugiperda*. Las larvas sobrevivientes se pesaron el día siete y las pupas se incubaron hasta que emergieron las polillas. Los resultados mostraron que los compuestos 1 y 2 no causaron mortalidad significativa en las larvas de *S. frugiperda* pero redujeron el peso de las larvas.

Valladares *et al.*, 2014; estudiaron *Crescentia alata* (Bignoniaceae) en contra de *S. frugiperda*. Después de siete días de exposición en la dieta con 200 ppm se produjo un 90.76 % de reducción del peso larval. Se identificaron iridoides en las fracciones activas de *C. alata*, a los cuales se les atribuye actividad antialimentaria y el efecto letal logrado.

Romo *et al.*, 2016; evaluaron la actividad de las partes aéreas (hojas y tallos) del mirto, *Salvia microphylla* (Lamiaceae) sobre *S. frugiperda*. Este extracto presentó actividad insecticida a partir de la concentración de 500 ppm, obteniendo un 35 % de viabilidad larval.

1.2.6. Estudios de *Dysphania ambrosioides* sobre insectos plaga

1.2.6.1. *Dysphania ambrosioides* sobre lepidópteros plaga

Novo *et al.*, 1998; estudiaron la actividad antialimentaria sobre larvas de *Anticarsia gemmatalis* de cuatro especies vegetales entre las cuales se encuentra *Chenopodium ambrosioides* L. Los resultados indicaron que el extracto crudo de etanol de *C. ambrosioides* al 5 % mostró destacado efecto antialimentario.

Tavares y Vendramin, 2005; probaron el material vegetal seco y molido de *D. ambrosioides* colectada en periodo de floración. Los fitoextractos obtenidos de los órganos individuales no presentaron actividad insecticida, sin embargo el fitoextracto de la planta completa presentó actividad insecticida, con un 95 % de mortalidad a los 5 días de tratamiento.

Tagliari *et al.* 2010; reportaron un la mortalidad corregida de *S. frugiperda* resultante de la aplicación de macerado e infusión de hojas de *C. ambrosioides*. La mortalidad corregida con el macerado fue de 31 % y de 38 % con la infusión.

Knaak *et al.*, 2012; reportaron la evaluación de los extractos acuosos de 19 plantas medicinales sobre *Spodoptera frugiperda*. Se aplicaron 100 µL de cada extracto acuoso en la dieta artificial, el tratamiento de las hojas de *D. ambrosioides* no provocó anomalías o deformaciones, y el peso promedio de las pupas tratadas no mostró diferencia significativa con respecto al grupo testigo.

Trindade *et al.*, 2015; probaron el extracto acuoso de *C. ambrosioides* aplicado en hojas de maíz contra *S. frugiperda*, las concentraciones al 2 % y 6 % redujeron el peso de las pupas significativamente respecto a las demás concentraciones empleadas. Ninguna concentración disminuyó la viabilidad larval y pupal significativamente respecto al testigo.

Vázquez *et al.*, 2015; reportaron la actividad de cinco especies pertenecientes a la familia Chenopodiaceae sobre *Copitarsia decolora* “oruga de la col”, entre las especies estudiadas se encontraba *Dysphania ambrosioides*, y como resultados reportaron que el empleo del aceite esencial al 0.5 % redujo significativamente el peso de las larvas tratadas en un 33 % con respecto al grupo control.

1.2.6.2. *Dysphania ambrosioides* sobre coleópteros de granos almacenados

Tapondjou *et al.*, 2002; evaluaron *C. ambrosioides* en contra del “gorgojo del trigo o del grano” *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae), mencionando que cuando se empleó la especie vegetal en polvo en una concentración de 6.4 % produjo una mortalidad del 100 % del insecto a los dos días de tratamiento.

Gómez *et al.*, 2016; reportaron la evaluación del polvo de *C. ambrosioides* en contra del “gorgojo del maíz” *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Concluyendo que el empleo del polvo de *C. ambrosioides* en concentraciones (p/p) del 1, 2 y 3 %, ocasionaron mortalidades del insecto que superaron el 90 % después de 15 días de tratamiento.

1.2.6.3. *Dysphania ambrosioides* sobre dípteros

En el estudio realizado por Denloye *et al.*, 2010; evaluaron el aceite esencial de las hojas de epazote en larvas del primer al cuarto estadio y en adultos del insecto plaga *Anopheles gambiae* (Díptera: Culicidae). Reportando que la dosis letal media de *C. ambrosioides* sobre *A. gambiae* fue del 1.01 μ L/L.

1.2.7. Efecto de *Dysphania ambrosioides* en mamíferos de laboratorio

Moreno *et al.*, 2013; estudió la toxicidad subcrónica de infusiones de *C. ambrosioides* en ratones albinos suizos NIH. La administración por vía oral de infusiones de “epazote” no causó efectos significativos en parámetros toxicológicos en peso corporal, en hematología o en química sanguínea; tampoco se provocaron alteraciones anatomopatológicas sobre los órganos y tejidos.

Zavala *et al.*, 2016; estudiaron la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de *Chenopodium ambrosioides* en Ratas Long-Evans. El extracto se administró por vía oral mediante sonda orogástrica en dosis de 2000 mg/Kg. Las ratas fueron sometidas previamente a un ayuno de 16 a 18 horas. Como resultados se observó que el extracto alcohólico de “epazote” no produjo mortalidad; sin embargo en las primeras horas post-administración las ratas mostraron signos de letargo y somnolencia atribuibles a una leve toxicidad. En las observaciones posteriores, se observó un incremento en cuanto al peso de los animales experimentales en ambos grupos.

1.2.8. Actividad biológica de productos naturales en insectos

De acuerdo con Vázquez-Luna *et al.*, 2007; algunas metabolitos secundarios actúan en los insectos de las siguientes formas:

Alteración del desarrollo del insecto, se evita que éste alcance un crecimiento óptimo.

Inhibición en la alimentación, se bloquea la absorción de los nutrimentos básicos para el crecimiento del insecto, por lo que los insectos mueren por inanición.

Repelencia, actividad que ejercen los compuestos con efectos irritantes sobre los agentes que intentan atacar a la planta.

Por otro lado existe un fenómeno llamado hormesis, que es la respuesta a la dosis que se caracteriza por una estimulación por dosis bajas y una inhibición para dosis altas, lo que resulta en una curva de respuesta en forma de J o de U invertida. Un compuesto tóxico que produzca el efecto de hormesis tiene a bajas dosis el efecto contrario al que tiene en dosis más altas.

1.2.9. Técnicas analíticas para identificación de productos naturales

1.2.9.1. Espectroscopía infrarroja⁷

Tabla 3. Vibraciones características de grupos funcionales por espectroscopía infrarroja

Número de onda (cm ⁻¹)	Asignación
	<i>Alcohol y fenoles</i>
3600	Estiramiento O-H del alcohol
3550-3500	Estiramiento O-H del fenol
1300-1000	Estiramiento C-O
	<i>Éteres</i>
1100	Estiramiento C-O-C
	<i>Aldehídos y cetonas</i>
2900-2700	Estiramiento C-H del aldehído
1740-1720	Estiramiento C=O del aldehído alifático
1730-1700	Estiramiento C=O de la cetona alifática
1720-1680	Estiramiento C=O del aldehído aromático
1700-1680	Estiramiento C=O de la cetona aromática
	<i>Éteres</i>
1750-1730	Estiramiento C=O alifático
1730-1705	Estiramiento C=O aromático
1310-1250	Estiramiento C-O aromático
1300-1100	Estiramiento C-O alifático
	<i>Ácidos carboxílicos</i>
3300-2500	Estiramiento O-H
1700	Estiramiento C=O
1430	Flexión C-O-H en el plano
1240	Estiramiento C-O
930	Flexión C-O-H fuera del plano
	<i>Anhídridos</i>
1840-1800	Estiramiento C=O
1780-1740	Estiramiento C=O
1300-1100	Estiramiento C-O

⁷ Técnica analítica utilizada para determinaciones cualitativas de compuestos a partir de sus grupos funcionales.

Es una técnica analítica que distingue los enlaces presentes en moléculas orgánicas, a través de provocar excitaciones vibracionales mediante la administración de energía. En el espectro de luz infrarroja las moléculas muestran bandas de absorción en un intervalo de 100 cm^{-1} hasta 4000 cm^{-1} .

Cada enlace, producen una banda de absorción de energía característica para cada tipo de enlace de acuerdo a los átomos que lo forman, y de esta manera se pueden distinguir los grupos funcionales presentes en la molécula orgánica. A mayor fuerza en enlace químico, mayor es la energía que se debe absorber para favorecer la vibración de los núcleos involucrados en el enlace. En la Tabla 3 se muestran algunos grupos funcionales presentes en moléculas orgánicas y los rangos de vibración que los caracteriza (Rubinson y Rubinson, 2001).

1.2.9.2. Análisis cualitativo de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina (TLC)⁸

Dentro de los métodos clásicos de análisis químico empleados en la calidad y control, se encuentra la cromatografía en capa fina (TLC), a través del cual se puede identificar el número de componentes presentes en una muestra orgánica, detectando de acuerdo a la abundancia presente en la muestra, a compuestos mayoritarios (compuestos de interés) y compuestos minoritarios (impurezas). La TLC continua siendo un método de análisis de calidad importante, porque presenta

⁸ Método de análisis que permite la separación de gases o líquidos de una mezcla por adsorción selectiva, produciendo manchas diferentemente coloreadas en el medio adsorbente; está basado en la diferente velocidad con la que se mueve cada fluido a través de una sustancia porosa.

varias ventajas entre ellas que es rápida, sencilla, adecuada separación de componentes químicos y detección por procedimientos físicos y químicos (Figura 5., Bhawani *et al.*, 2010).

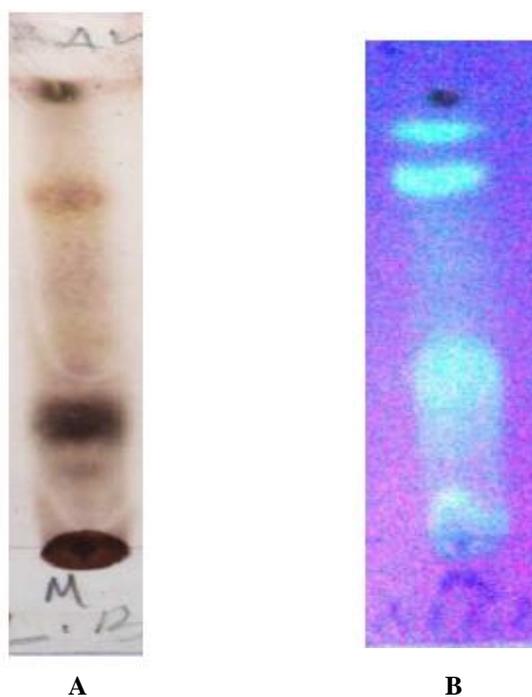


Figura 5. Ejemplos de placas cromatográficas con compuestos naturales. A. Terpenoides, placa revelada con reactivo de Liebermand. (B). Flavonoides, placa revelada con cloruro de aluminio

CAPÍTULO 2

2.1. Justificación

En México, el gusano cogollero es una plaga que puede llegar a causar pérdidas económicas hasta del 50 % en el rendimiento del cultivo del maíz. Los insecticidas que se emplean para controlar y erradicar de los cultivos a *Spodoptera frugiperda* son dañinos para la salud de los seres vivos y nocivos para el medio ambiente. Recientemente la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza prevé que para el año 2050 la demanda de alimento aumentará de un 50 a un 60 %, por lo que es importante promover una agricultura sostenible a nivel global. México se ubica como el quinto país con mayor diversidad de plantas vasculares en el mundo, se menciona un registro de más de 23,000 especies (Rzedowski, 1991a, 1991b; Toledo 1993; Villaseñor 2003 y 2004; Llorente Bousquets y Ocegueda, 2008), por lo que cuenta con una diversidad florística que conduce a una variedad de metabolitos secundarios que desempeñan un importante papel en el equilibrio ecológico que se da entre las relaciones entre las plantas y otros organismos.

Diferentes metabolitos secundarios presentan actividad biológica en diferentes familias de insectos, por lo que existen áreas de oportunidad para estudiar estos productos y generar nuevos insecticidas botánicos para implementarlos en el control de plagas. Por lo que es necesario continuar con investigaciones a nivel laboratorio que conduzcan a determinar la actividad de los principios activos (Stevenson *et al.*, 2012; Belmain *et al.*, 2012; Hernández-Moreno *et al.*, 2013). Por lo que se propone comprobar la posible actividad insecticida de *Dysphania ambrosioides* y contribuir al conocimiento de productos naturales y su aplicación como bioinsecticida empleando como organismo modelo de prueba a *Spodoptera frugiperda*.

2.2. Objetivo general

Determinar la actividad insecticida de *Dysphania ambrosioides* sobre *Spodoptera frugiperda* a nivel laboratorio.

2.3. Objetivos específicos

1) Evaluar el efecto insecticida de extractos orgánicos de *Dysphania ambrosioides* sobre *Spodoptera frugiperda*.

2) Determinar la composición de los extractos orgánicos de *Dysphania ambrosioides* que presenten mayor actividad.

CAPÍTULO 3

3.1. Material y métodos

3.1.1. Obtención de extractos orgánicos de *Dysphania ambrosioides*

El epazote verde y morado fue adquirido comercialmente en el mercado municipal Adolfo López Mateos en Cuernavaca, Morelos. El material vegetal fresco fue separado en los diferentes órganos que lo componían: hojas y tallos; retoños y semillas.

Los tejidos vegetales separados se extendieron sobre papel kraft y se les dejó secar a temperatura ambiente y a la sombra durante 30 días. Posteriormente los componentes intracelulares de cada parte de la planta se extrajeron vía maceración, empleando solventes en orden creciente de polaridad. Cada tejido de epazote individualmente fue sumergido inicialmente en hexano, dejando en reposo por 72 horas. Pasado ese tiempo la mezcla de disolvente y el contenido químico extraído se filtraron y el disolvente fue retirado por destilación a presión reducida, empleando un rotaevaporador, para por un lado recuperar el solvente en exceso y por otro obtener el extracto orgánico (Chemat *et al.*, 2012; Sultana *et al.*, 2009). El proceso se repitió por dos ocasiones más para conseguir con ello una extracción exhaustiva de componentes químicos (Figura 6). La misma metodología se repitió para cada tejido, empleando acetona y posteriormente metanol.



Figura 6. Obtención y recuperación de fitoextractos de *Dysphania ambrosioides*

Los extractos de epazote verde y morado recuperados de las partes aéreas: hojas y tallos; retoños y de semillas; fueron colocando en frascos de vidrio previamente etiquetados y tarados, colocándose en la campana de extracción a temperatura ambiente y fuera del alcance de la luz solar. Cada frasco fue cubierto con papel aluminio al cual se le realizaron pequeñas perforaciones para permitir la evaporación completa del disolvente, lo que se corroboró al llegar a un peso constante.

3.1.2. Cría de larvas de *Spodoptera frugiperda*

Larvas de *S. frugiperda* se colectaron dentro del Centro de desarrollo de Productos de Productos Bioticos del Instituto Politécnico Nacional en plantas de maíz. Las larvas se colocaron individualmente en pequeñas cajas de plástico y se trasladaron al Laboratorio de Entomología del Centro de Desarrollo de Productos de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional posteriormente las larvas fueron alimentadas con dieta artificial (Burton & Perkins 1987). Los individuos puparon al interior de los frascos y se mantuvieron ahí hasta la emergencia de los adultos.

Parejas de adultos de *S. frugiperda* (hembra y macho) se introdujeron en bolsas de papel, dentro de cada bolsa también se colocó una caja de Petri con algodón impregnado de agua con miel al 10 % para su alimentación. Una vez que las parejas copularon y las hembras ovipositaron masas de huevecillos al interior de la bolsa, las masas fueron recortadas de las bolsas y colocadas en pequeñas cajas o frascos plásticos, una vez que ocurre la eclosión de las larvas, se les coloca una pequeña cantidad de dieta artificial (Figura 7).



Figura 7. Obtención de larvas de *Spodoptera frugiperda*

3.1.3. Preparación de la dieta artificial

Tanto para la cría como para realizar los bioensayos, se utilizó una dieta merídica (Burton & Perkins, 1987) para alimentar a las larvas de *S. frugiperda* la cual le provee los requerimientos nutricionales para su correcto desarrollo. Esta dieta está conformada por los ingredientes listados en la Tabla 4.

Tabla 4. Ingredientes utilizados en la dieta artificial (250 g)

Ingredientes	Cantidad (g ó mL)
Frijol peruano	30 g
Germen de trigo	13.75 g
Levadura de cerveza	8.75 g
Ácido ascórbico	0.87 g
Ácido sórbico	0.37 g
Metilparahidroxibenzoato	0.55 g
Formaldehído	2.5 mL
Agar	3.75 g
Agua para frijol	116 mL
Agua para agar	90 mL

En un recipiente con agua, se remojó el frijol por 24 horas, posteriormente se enjuagó y molió en una licuadora. Una vez molido, se le agrega el resto de los ingredientes antes mencionados (a excepción del agar). El agar se disolvió en 90 mL de agua, se colocó en el microondas por 1 minuto, y se vertió en la licuadora inmediatamente para su homogenización con todos los ingredientes.

3.1.4. Diseño experimental

El diseño experimental para los dos bioensayos realizados en este estudio fue un diseño completamente al azar con 25 repeticiones (n=25 larvas) por tratamiento. Las variables de respuesta fueron peso larval a los 7 y 14 días, mortalidad larval, peso y mortalidad de pupas.

Para el análisis de los datos de los pesos obtenidos, se utilizó el software estadístico SigmaPlot12, en el que se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por el método de Dunn.

La mortalidad se calculó con la fórmula de Duso *et al.* (2008):

$$\% M = \frac{NMF}{NVI} \times 100$$

Dónde: % M= porcentaje de mortalidad; NMF= número de individuos muertos al final del estudio; NVI= número de individuos vivos al final del estudio

Una vez obtenidos los porcentajes de mortalidad estos se corrigieron con la fórmula de Abbott (1987), esto para descartar la mortalidad originada por causas no relacionadas con los extractos.

$$\%MCA = \frac{\%MT - \%MC}{100 - \%MC} \times 100$$

Dónde: % MCA=mortalidad corregida de Abott; % MT= porcentaje de mortalidad del tratamiento; % MC= porcentaje de mortalidad del control

3.1.5. Bioensayo en laboratorio

3.1.5.1. Primer bioensayo

El primer bioensayo en laboratorio consistió en 8 tratamientos, se emplearon 25 larvas en 250 gramos de dieta artificial por cada tratamiento, añadiendo los diferentes extractos, todos a una concentración de 500 ppm (Tabla 5).

Tabla 5. Tratamientos utilizados para evaluar la actividad de los fitoextractos orgánicos de *D. ambrosioides* verde y morado sobre *S. frugiperda* en condiciones de laboratorio

Tratamiento	Concentración		n	Dieta artificial
	ppm	mg		
Dieta artificial	0	0	25	250 mL
Extracto metanólico (hoja y tallo) de epazote morado	500	133	25	250 mL
Extracto metanólico de retoño de epazote morado	500	133	25	250 mL
Extracto metanólico de semillas de epazote morado	500	133	25	250 mL
Extracto acetónico (hoja y tallo) de epazote verde	500	133	25	250 mL
Extracto acetónico de retoño de epazote verde	500	133	25	250 mL
Extracto metanólico de semillas de epazote verde	500	133	25	250 mL
Extracto metanólico (hoja y tallo) de epazote verde	500	133	25	250 mL

Para el grupo control se suministró únicamente la dieta artificial, sin añadir algún otro ingrediente. En pequeños recipientes de plástico se colocó aproximadamente 10 mL de dieta que

contenía el fitoextracto respectivo, dejándose gelificar por 24 h. Posteriormente con ayuda de un pincel de pelo de marta de número 1, en cada recipiente se colocó una larva de tres días de nacida. Estos se colocaron en la cámara incubadora a 27 ± 1 °C, bajo humedad relativa de 60-70 % y fotoperiodo de 12-12 L-O.

3.1.5.2. Segundo bioensayo

Para establecer la concentración óptima activa, en el segundo bioensayo se evaluó el extracto metanólico de partes aéreas (hojas y tallos) de epazote verde, que fue el único que mostró efectividad, éste bioensayo consistió en 4 tratamientos, evaluando el extracto a las concentraciones: 125, 250, 500 y 750 ppm., empleando 25 repeticiones (n=25 larvas) en 250 mL de dieta artificial para cada tratamiento y para el testigo, considerando las condiciones ambientales y las variables de respuesta anteriormente descritas

3.1.6. Caracterización química del fitoextracto bioactivo

Con la finalidad determinar el contenido químico del fitoextracto, se realizó la cromatografía en capa fina comparativa de acuerdo a lo descrito previamente como se describió por Pothitiral & Gritsanapan, 2008. También se realizó la espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier para establecer los tipos de grupos funcionales más abundantes.

3.1.6.1. Espectroscopía infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR)

El análisis de FT-IR, se realizó empleando un espectro de IR marca Bruker modelo: ALPHA (No. De Serie: TN: 301538, Figura 8). Acoplado al software Opus Versión 7.5, que realiza transformada de Fourier y permite la obtención de los espectrogramas respectivos. La muestra fue colocada directamente sobre la plataforma para su análisis, realizando el escaneo de la muestra en un rango de longitud de onda de 400 a 4000 cm^{-1} .



Figura 8. Espectrómetro de IR, Bruker ALPHA

3.1.6.2. Cromatografía en capa fina

En una placa de cromatografía de capa fina (CCF) de base aluminio, recubierta con una capa delgada de un sólido adsorbente (gel de sílice o alúmina), se depositaron en un punto en la parte inferior de la placa, de diez a quince gotas de una disolución del fitoextracto bioactivo.

La placa CCF se introdujo en una cubeta cromatográfica, de forma que sólo la parte inferior de la placa CCF quedara sumergida en el líquido eluyente. La fase móvil o eluyente empleado fue hexano-diclorometano-metanol (70:20:10), ascendió por la placa de CCF por capilaridad.

A medida que el eluyente pasó por el lugar donde se encontraba la mancha de la mezcla problema se estableció un equilibrio entre las moléculas de cada uno de los componentes en la mezcla que son adsorbidas y que se encontraron en disolución.

En principio, los componentes se diferenciaron en solubilidad y por la fuerza de su adsorción, de forma que unos componentes se desplazaron más que otros. Cuando el eluyente llegó a la parte superior de la placa CCF, se retiró de la cubeta, se secó, y los componentes separados de la mezcla se visualizaron por método físico y químico.

3.1.6.2.1. Visualización de los fitocompuestos

Si los compuestos son coloreados éstos pueden observarse a través de manchas a simple vista. Si no es así, los métodos a emplear para visualizar las manchas de la mezcla serán físicos a través de luz ultravioleta y químicos con sulfato cérico amoniacal y calor.

CAPÍTULO 4

4.1. Resultados y discusión

4.1.1. Recuperación de los fitoextractos

Los extractos de *D. ambrosioides* verde y morado recuperados de las partes aéreas (hojas y tallos), retoños y semillas, con diferentes disolventes orgánicos; fueron colocados en frascos de vidrio de boca ancha previamente limpios, etiquetados y tarados. Se taparon con papel aluminio al cual se le realizaron pequeñas perforaciones para permitir la evaporación del disolvente, por lo que los frascos fueron colocados dentro de campana de extracción a temperatura ambiente y fuera del alcance de la luz solar, para favorecer que el disolvente se evaporará. Después de 144 h los frascos con extracto comenzaron a ser pesados y el peso fue registrado cada 24 h hasta que se llegó a un peso constante, con lo cual se corroboró la eliminación completa del disolvente.

Los extractos hexánicos mostraron apariencia física densa de color amarillo claro; los extractos de mayor polaridad mostraron apariencia física viscosa, el color los extractos de epazote verde fue verde oscuro y el color de los extractos de epazote morado fue de color café-rojizo oscuro. Todos los extractos mostraron un olor característico a hierba. El porcentaje de recuperación de cada extracto con respecto al peso del material vegetal seco empleado, se calculó usando la ecuación 1.

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{\text{g de extracto}}{\text{g de planta seca}} \times 100 \text{ (Ec. 1)}$$

En la Tabla 6, se muestran los porcentajes de recuperación de los extractos de acuerdo con el tipo de tejido y disolvente empleado; se muestran las cantidades de material vegetal procesado por

maceración para la obtención de los diferentes fitoextractos que se evaluaron como insecticidas naturales.

Tabla 6. Porcentajes de recuperación de los fitoextractos de *D. ambrosioides*

<i>D. ambrosioides</i>	Tejido u órgano	Cantidad (g)	Extracto	Peso (g)	% de recuperación
verde	Partes aéreas (hojas y tallos)	300	Hexano	1.15	0.38
			Acetona	2.13	0.71
			Metanol	8.90	2.96
	Retoños	120	Hexano	0.95	0.79
			Acetona	1.23	1.03
			Metanol	2.63	2.19
	Semillas	47	Hexano	0.29	0.62
			Acetona	0.46	0.98
			Metanol	1.23	2.62
morado	Partes aéreas (hojas y tallos)	267	Hexano	0.87	0.32
			Acetona	2.16	0.81
			Metanol	5.45	2.04
	Retoños	84	Hexano	0.45	0.54
			Acetona	0.97	1.15
			Metanol	2.03	2.42
	Semillas	41	Hexano	0.37	0.90
			Acetona	0.96	1.85
			Metanol	1.25	3.05

Se puede apreciar en la Tabla 6, que el epazote verde mostró los mayores porcentajes de recuperación en comparación con el epazote morado. Se observa que el metanol fue el disolvente que permitió mayor recuperación de metabolitos porque muestra mayor porcentaje de recuperación. Las partes aéreas rindieron mayor recuperación de fitoextracto. Sin embargo, las semillas de epazote morado mostraron mayor porcentaje de recuperación en comparación con las semillas del epazote verde.

Debido a que la dieta merídica es base agua y que los fitoextractos son de naturaleza orgánica y de baja polaridad, se observó que para la mayoría de los fitoextractos existió incompatibilidad para solubilizarlos en la dieta. Por lo que sólo fue posible evaluar la actividad insecticida de los fitoextractos que se muestran en la Tabla 7, siendo la mayoría los que fueron recuperados con metanol.

Tabla 7. Fitoextractos de *D. ambrosioides* que lograron ser solubilizados en la dieta merídica para su evaluación insecticida

Morado	Verde
Hojas y tallos Metanol Retoños Metanol Semillas Metanol	Hojas y tallos Acetona Hojas y tallos Metanol Retoños Acetona Semillas Metanol

Sólo el 40 por ciento de los fitoextractos fueron solubles totalmente en la dieta merídica y la mayoría de estos fueron los recuperados con metanol. Por lo que aquellos extractos insolubles no lograron ser evaluados.

4.1.2. Actividad insecticida de *Dysphania ambrosioides* sobre *Spodoptera frugiperda*

4.1.2.1. Determinación de la actividad insecticida de extractos orgánicos de *Dysphania ambrosioides* contra *Spodoptera frugiperda*

Primer bioensayo. En la Tabla 8, se muestra el efecto de los diferentes tratamientos con extractos orgánicos de epazote verde y morado sobre el peso promedio de las larvas a los 7 y 14 días, así como el peso promedio de las pupas. A los 7 días, cinco de los tratamientos incrementaron los pesos larvales respecto al testigo, observándose un ligero incremento de peso en larvas, aunque no una diferencia significativa. El único tratamiento que presentó diferencia significativa ($H= 48.879$;

gl= 7; p= <0.001) fue el extracto metanólico de hojas y tallos de epazote verde, inhibiendo el peso de las larvas en un 68.75 % respecto al testigo (Tabla 8).

A los 14 días el peso promedio de las larvas, la diferencia significativa (H= 27.814; gl= 7; p= <0.001) se presentó con el extracto metanólico de hojas y tallos de epazote verde, inhibiendo el peso en un 25.92 % respecto al testigo. Los extractos metanólicos de epazote morado de semillas y retoños aumentaron ligeramente el peso respecto al testigo.

Tabla 8. Peso de larvas y pupas de *S. frugiperda* sobrevivientes a los 7 y 14 días de tratamiento con fitoextractos de *D. ambrosioides* a 500 ppm.

Tratamiento		Peso de Larvas (mg)&		Peso de Pupas (mg)&
<i>D. ambrosioides</i> [500 ppm]		7 días	14 días	
Verde	Hojas y tallos Acetona	6.6 ± 2.5 a	161 ± 60 ab	201 ± 18 a
	Hojas y tallos Metanol	2.0 ± 0.7 b	100 ± 30 b	160 ± 20 b
	Retoños Acetona	6.6 ± 2.5 a	157 ± 60 ab	207 ± 27 a
	Semillas Metanol	5.9 ± 3.0 a	133 ± 76 ab	215 ± 28 a
Morado	Hojas y tallos Metanol	6.8 ± 3.0 a	148 ± 60 ab	212 ± 31 a
	Retoños Metanol	7.0 ± 3.4 a	170 ± 120 a	205 ± 28 a
	Semillas Metanol	7.6 ± 3.0 a	176 ± 80 a	216 ± 30 a
Testigo		6.4 ± 3.0 a	135 ± 50 ab	211 ± 17 a

&Medias con las mismas letras en cada columna no son significativamente diferentes (P = 0.05).

En el peso promedio de las pupas, el único tratamiento que exhibió una diferencia significativa respecto al testigo, fue el extracto metanólico de hojas y tallos de epazote verde. La inhibición del peso fue de 24.17 % respecto al testigo.

El fitoextracto metanólico de las hojas y tallos de *D. ambrosioides* produjo reducción de peso en larvas y pupas de *S. frugiperda*, por lo que este fitoextracto mostró una actividad antialimentaria.

Los porcentajes de mortalidad corregida que presentaron las larvas y pupas de los diferentes tratamientos empleados se muestran en la Tabla 9. La mortalidad más alta en el estado larval y pupal fue provocada por el extracto metanólico de hojas tallos de epazote verde, con 34.78 % de mortalidad larval y 54.16 % de mortalidad pupal.

Tabla 9. Mortalidad de larvas y pupas de *S. frugiperda* con fitoextractos de *D. ambrosioides*.

Tratamiento con Fitoextractos orgánicos de <i>D. ambrosioides</i> [500 ppm]		% de Mortalidad corregida		
		Larval	Pupal	Total
Verde	Hojas y tallos Acetona	0	8.3	8.3
	Hojas y tallos Metanol	34.78	54.16	88.94
	Retoños Acetona	4.34	8.3	12.64
	Semillas Metanol	8.69	8.3	16.99
Morado	Hojas y tallos Metanol	0	8.3	8.3
	Retoños Metanol	17.39	4.1	21.49
	Semillas Metanol	8.69	4.1	12.79
Testigo		0	0	0

4.1.2.2. Determinación de la actividad insecticida del fitoextracto activo de *Dysphania ambrosioides* contra *Spodoptera frugiperda*

Segundo bioensayo. El fitoextracto de *D. ambrosioides* verde fue evaluado a nivel laboratorio sobre *S. frugiperda* en cuatro concentraciones 125, 250, 500 y 750 ppm, para determinar la concentración bioactiva como insecticida, conservando las condiciones del bioensayo inicial (Tabla 10).

Todas las concentraciones ensayadas del fitoextracto metanólico de *D. ambrosioides* verde produjeron reducción en el promedio de los pesos larvales a los 7 y 14 días y en los pesos pupales, en comparación con el testigo (Tabla 10),.

El peso larval promedio que presentó diferencia significativa a los 7 días, ocurrió con el tratamiento a 250 ppm del fitoextracto, produciendo una reducción de peso del 21.11 % con respecto al testigo ($H = 10.815$; $gl = 4$; $p = 0.029$).

A los 14 días de tratamiento el peso larval promedio que presentó diferencia significativa fue el tratamiento en el que se empleó el fitoextracto a 500 ppm, la reducción de peso fue del 24.88 % con respecto al testigo ($H = 13.362$; $gl = 4$; $p = 0.010$).

Tabla 10. Bioactividad del fitoextracto metanólico de las partes aéreas de *D. ambrosioides* sobre *S. frugiperda*.

Concentración (ppm) Fitoextracto Metanólico de Partes aéreas de <i>D.</i> <i>ambrosioides</i>	Peso de larvas (mg)		Peso de pupas (mg)
	7 días	14 días	
125 ppm	96.9 ± 35.7 b	399.9 ± 46.7 a	220.8 ± 31.3 a
250 ppm	94.9 ± 31.5 b	381.0 ± 64.2 a	229.2 ± 37.5 a
500 ppm	108.5 ± 33.9 a	311.8 ± 18.9 b	219.5 ± 25.0 a
750 ppm	117.0 ± 35.7 a	366.6 ± 118.a	214.8 ± 30.3 a
Testigo	120.3 ± 31.4 a	415.1 ± 56.0 a	221.8 ± 35.1 a

Así mismo existió reducción del peso en pupas, no encontrándose diferencia significativa entre el peso de las pupas tratadas con respecto al testigo ($H = 0.708$; $gl = 4$; $p = 0.950$).

Respecto a lo previamente mencionado por Vázquez *et al.*, 2015 quienes estudiando cinco quenopodiáceas y entre las cuales se encontró *D. ambrosioides*, reportaron que los extractos acuosos de estas especies no mostraron diferencia significativa en la reducción del peso larval de *Copitarsia decolora* (Lepidoptera:Noctuidae).

Los resultados mostrados en este trabajo respecto de la reducción del peso pupal, concuerdan con los reportados por Knaak *et al.*, 2012; quienes mencionaron que el uso del macerado e infusión de las hojas de *D. ambrosioides* (*C. ambrosioides*) no produjeron reducción estadísticamente significativa del peso de pupas de *S. frugiperda*.

El fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde a las concentraciones de 125, 250 y 500 ppm producen un porcentaje de mortalidad adecuado en larvas de *S. frugiperda*, sin embargo, la mortalidad más alta en larvas se obtuvo con 250 ppm del fitoextracto con cerca del 46 % de mortalidad larval. En la literatura se reportó que 500 ppm del fitoextracto metanólico de las hojas *Bursera grandifolia* produjeron un 45 % de mortalidad larval en *S. frugiperda* (Aldana *et al.*, 2010). Ante esto observamos que el fitoextracto de *D. ambrosioides* tiene mayor bioactividad como insecticida.

Tabla 11. Porcentajes de mortalidad de larvas, pupas de *S. frugiperda* y mortalidad total tratados con extracto metanólico de partes aéreas de *D. ambrosioides* verde a 125, 250, 500 y 750 ppm, incorporados en una dieta merídica.

Concentraciones de Fitoextracto metanólico de partes aéreas de <i>D. ambrosioides</i> verde [ppm]	% de Mortalidad corregida		
	Larval	Pupal	Total
125 ppm	25.00	8.33	33.33
250 ppm	45.83	4.16	49.99
500 ppm	29.16	16.66	45.82
750 ppm	16.66	20.83	37.49
Testigo	0	0	0

El fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde a la concentración de 750 ppm produjo cerca del 21 % de la mortalidad de las pupas. De acuerdo con los datos de la literatura 500

ppm del fitoextracto metanólico de las hojas *Bursera grandifolia* produjeron un 35 % de pupas deformes (Aldana *et al.*, 2010).

En el caso de la mortalidad total, la más elevada se obtuvo con el tratamiento a 250 con 49.99 % de mortalidad total, seguida por la concentración a 500 ppm con 45.82 % de mortalidad total.

Lo anterior permite observar que el fitoextracto de *D. ambrosioides* es competitivo para realizar un control fitoquímico contra *S. frugiperda*.

4.1.2.2.1. Deformaciones en las pupas de *Spodoptera frugiperda*

Las pupas que se produjeron a partir del bioensayo donde se empleó el fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde, presentaron deformaciones de un 8 % al 28 %, el mayor porcentaje de deformaciones se produjeron con el tratamiento de 500 ppm. Sin embargo, 750 ppm del fitoextracto produjeron 24 % de pupas deformes (Figura 9).

En la Figura 9 la pupa testigo, corresponde a aquella que se observa completa, sin deformaciones o anomalías en algún segmento o en la cutícula (Capinera, 1999). Así mismo se muestran ejemplos de las pupas resultantes de los tratamientos con el fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde, en todas las concentraciones evaluadas.

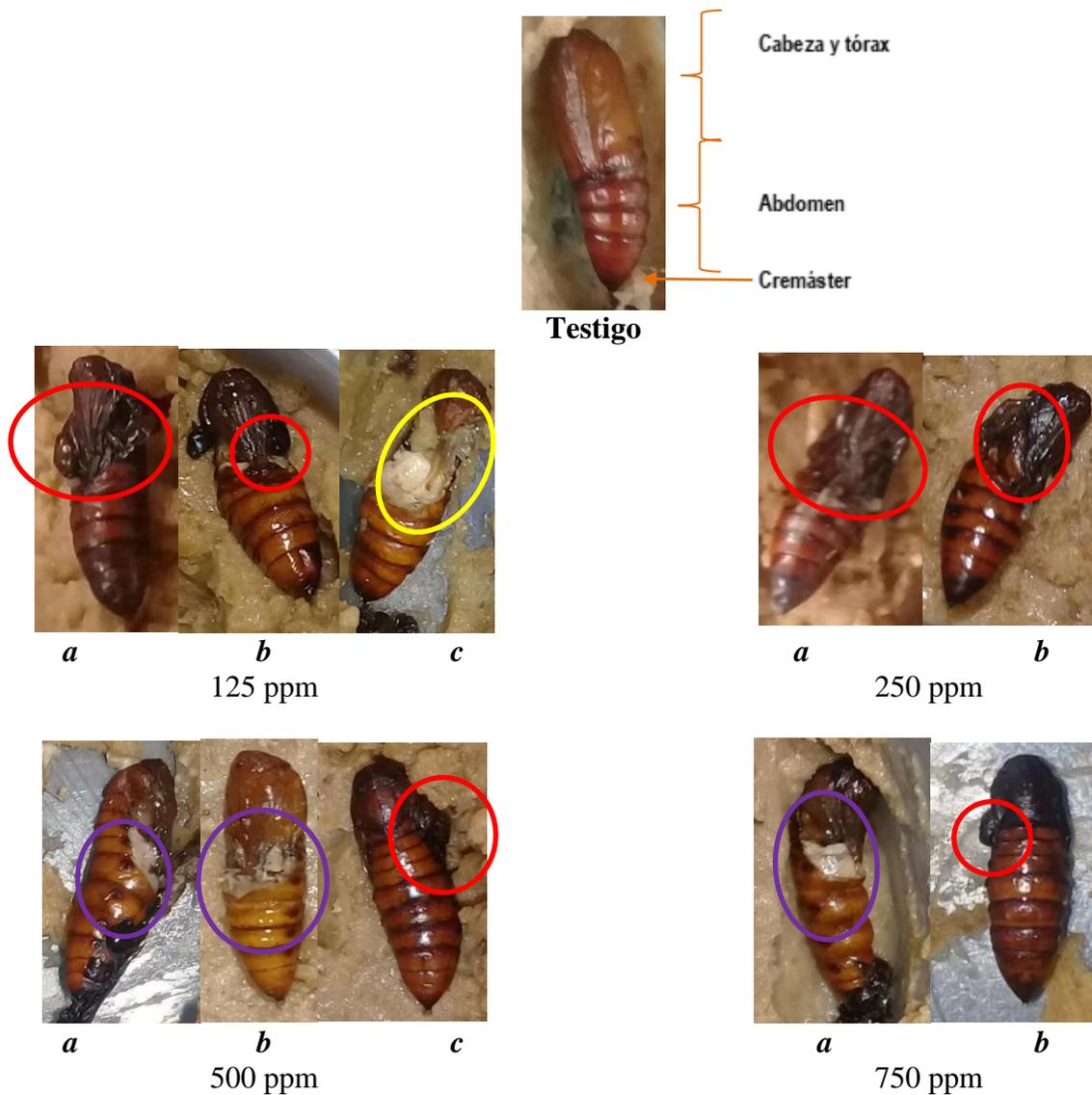


Figura 9. Pupas deformes con diferentes concentraciones del fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde

En la Figura 9, la pupa testigo, corresponde a aquella que se observa completa, sin deformaciones o anomalías en algún segmento o en la cutícula (Capinera, 1999). Así mismo se muestran ejemplos de las pupas resultantes de los tratamientos con el fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde, en todas las concentraciones evaluadas.

Las principales deformidades en las pupas que se pueden observar corresponden a la formación de sacos en la región cefálica (ver círculos rojos), discontinuidad de la cutícula que recubre el tórax y abdomen (ver círculos azules) e invaginación (ver círculo amarillo), la cual se muestra en la vista frontal de la pupa de imagen 'c' de 125 mg. deformidades que impidieron el desarrollo óptimo del insecto y que lo condujeron a su muerte. Efecto de anomalías en pupas de *S. frugiperda* en la región de tórax y abdomen han sido observadas previamente por Sosa, *et al.*, 2019; mediante el empleo de una fracción II de *Vernonanthura nebularum* (Asteraceae).

En los tratamientos con 500 y 750 ppm de fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde, se produjo además el impedimento de la formación continua de la cutícula en la región abdominal (ver círculos azules) de las pupas imágenes 'a' a 500 y 750 ppm. Estas deformaciones en las pupas impidieron la emergencia de adultos y condujeron al insecto a la muerte.

4.1.2.2.2. Deformaciones en adultos de *Spodoptera frugiperda*

Los adultos derivados de las larvas tratadas con el fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde presentaron deformidades principalmente en alas (Figura 10). La concentración de fitoextracto que provocó el porcentaje más alto de deformidades en adultos fue a 500 ppm, con lo cual se produjo un 12 % de individuos deformes en las alas y atrofiadas (b).

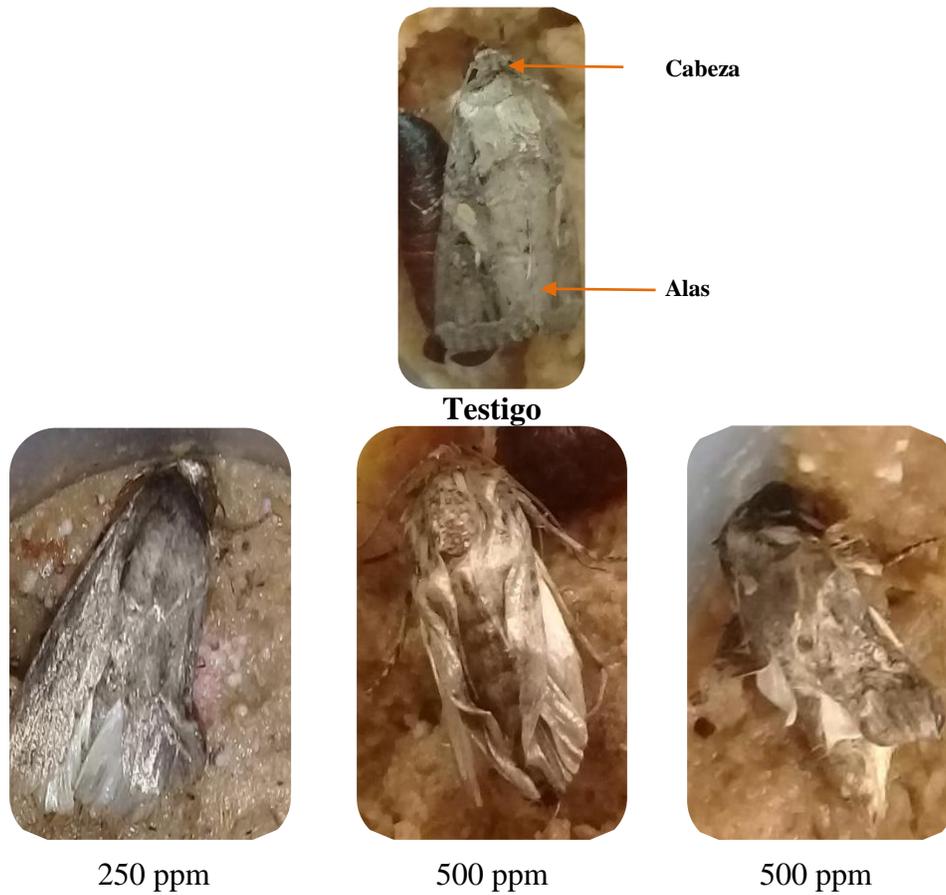


Figura 10. Adultos deformes de *S. frugiperda* tratados con diferentes concentraciones del fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde

Para los adultos de *S. frugiperda* que emergen con deformidades después de atravesar un tratamiento de control fitoquímico las consecuencias negativas para su incorporación en el ambiente natural son: la imposibilidad de volar lo que las expone a ser susceptibles de depredación por enemigos naturales (Hernández *et al.*, 2018; García *et al.*, 2012), imposibilidad de alimentarse lo que las conduciría a muerte y también tendrían imposibilidad para copular y reproducirse.

Cuando se producen adultos con anomalías en alas, posterior a un tratamiento de control fitoquímico se compromete la generación de huevecillos, abatiéndose dramáticamente y reduciéndose la población de la siguiente generación. Por lo que el control fitoquímico asegura la reducción de nuevas generaciones de insectos plaga (Paredes, *et al.*, 2013; Rashid, *et al.*, 2003).

4.1.3. Análisis químico del fitoextracto activo de *Dysphania ambrosioides* contra *Spodoptera frugiperda*

El fitoextracto metanólico de las partes aéreas (tallos y hojas) de *D. ambrosioides* verde, que resulto bioactivo como insecticida en contra de *S. frugiperda*, fue analizado a través de espectroscopia de infrarrojo acoplada a transformada de Fourier (IR-FT) y por cromatografía en capa fina (TLC); para identificar el tipo de grupos funcionales y el número de compuestos mayoritarios contenidos en el fitoextracto activo.

4.1.3.1. Espectroscopía de infrarrojo acoplada a transformada de Fourier del fitoextracto activo de *Dysphania ambrosioides* contra *Spodoptera frugiperda*

El espectro de IR-FT del fitoextracto metanólico de las partes aéreas (tallos y hojas) de *D. ambrosioides* verde, se muestra en la Figura 11, y en la Tabla 12 se muestran los valores de las vibraciones de los enlaces estimulados y la asignación de los mismos.

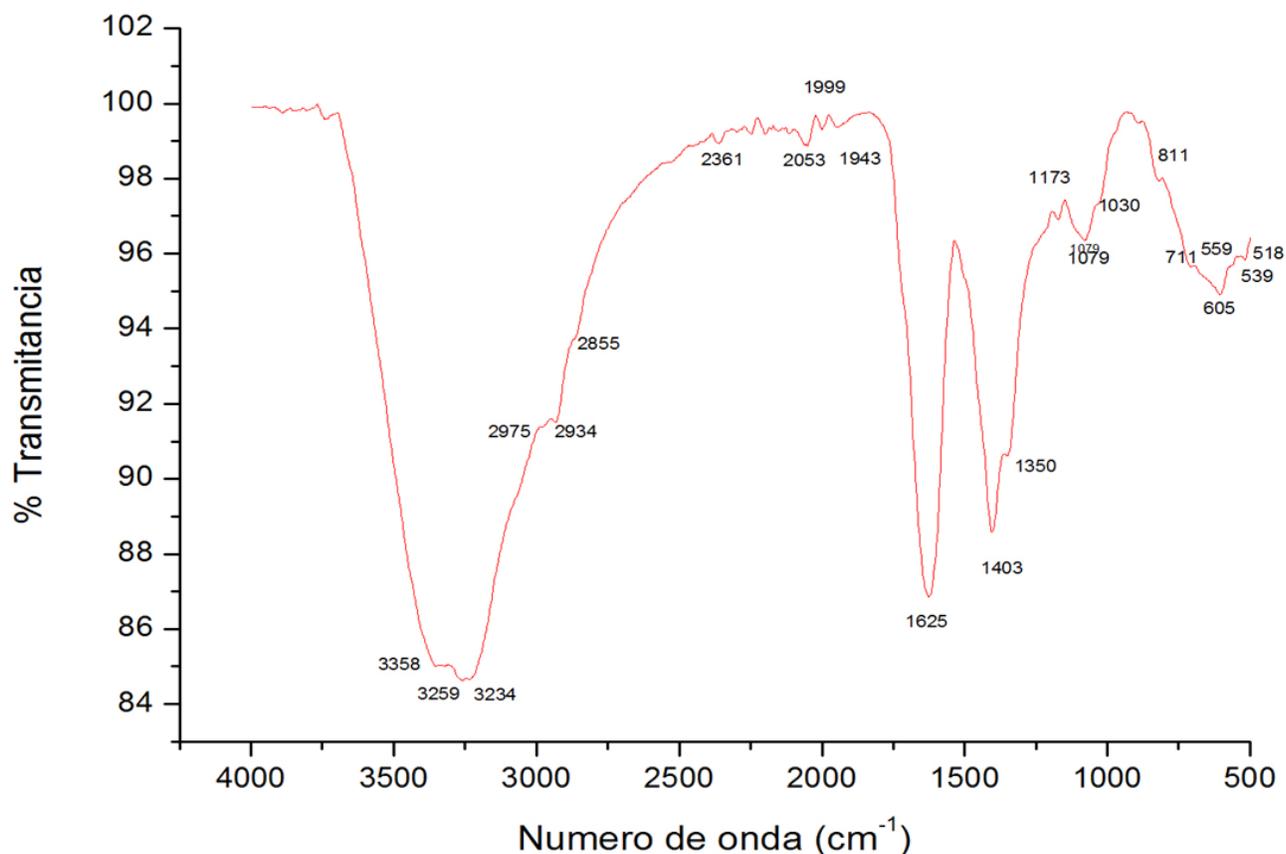


Figura 11. Espectro de IR-FT del fitoextracto metanólico de las partes aéreas de *D. ambrosioides* verde

De acuerdo con lo reportado por Okhale, *et al.*, 2012; quienes realizaron el estudio fitoquímico del polvo de las partes aéreas de *C. ambrosioides* y quienes reportaron la presencia de terpenos, esteroides, saponinas, taninos, alcaloides, flavonoides y fenoles. Las estructuras químicas de estos compuestos contienen grupos funcionales como anillos aromáticos, dobles enlaces entre carbonos (C=C), heteroátomos en estructuras aromáticas o no aromáticas como nitrógeno (N) y oxígeno (O), hidroxilos (-OH). Los cuales pueden ser identificados a través de las vibraciones en IR-FT.

A través del análisis de los datos generados del espectro de IR-FT es posible distinguir grupos funcionales característicos para los tipos de compuestos naturales reportados previamente por Okhale, *et al.*, 2012; para las partes aéreas de *C. ambrosioides*.

Tabla 12. Vibraciones observadas en el IR-FT del fitoextracto metanólico de las hojas de *D. ambrosioides* verde y grupos funcionales asignables

Vibración	Enlace	Grupo funcional asignable
3359	R-NH-R' /	Alcaloides
3259	O-H (poliméricos)	Alcohol
3234		Taninos
2975	>C=O	Carbonilo de aldehído
2934		Resonancia de Fermi
2855	-CH ₂ -	Metileno adyacente a grupo aldehído
1625	-CH=CH-	Aromáticos
1403	=CH-	Protón vinílico adyacente a un N (amina)
1350	C=O (señal pequeña)	Carbonilo de Cetona Flavonoides
1173	C-O	Para alcohol terciario (≥C-OH)
1079	C-O	Para alcohol secundario (>CH-OH)
811	-CH=CH-	Alqueno trisustituido
711	-(CH ₂) _n - Aromático	Benceno monosustituido

4.1.3.2. Cromatografía en capa fina (TLC) del fitoextracto activo de *Dysphania ambrosioides* contra *Spodoptera frugiperda*

La TLC de los constituyentes químicos mayoritarios presentes en fitoextracto activo de *D. ambrosioides* en contra de *S. frugiperda*, fueron separados empleando como sistema de elución una mezcla de hexano-diclorometano- metanol (60:30:10) y los componentes mayoritarios fueron

visualizados empleando dos reveladores, uno físico que fue luz ultravioleta en dos diferentes longitudes de onda a 280 y 320 nm (Figura 12) y un revelador químico: sulfato cérico amoniacal y calor (Figura 13).

4.1.3.2.1. Revelado físico (Luz ultravioleta)

En la Figura 12a la cual se reveló con luz UV a una longitud de 320 nm, se aprecia un componente mayoritario como una mancha sólida oscura que quedó en la base de la placa (IV), una segunda mancha ancha, que se aprecia como una “sombra” que eluyó a la mitad de la placa (III), y dos manchas delgadas que eluyeron hasta la parte superior de la placa, una mancha intensa (II) y una más que se aprecia como una ligera sombra (I).

La misma placa visualizada con ayuda de luz ultravioleta de onda larga a 280 nm (Figura 12b) permitió visualizar tres manchas más, una mancha que eluyó con el frente del disolvente (parte superior de la placa) y que fluoresce en azul (V); una segunda mancha difusa como sombra azul en la parte media superior de la placa (VI) y una tercera mancha delgada que fluoresce en azul (VII) y que por su naturaleza polar quedó casi en el punto de aplicación de la placa.

Para que estos compuestos puedan ser visualizados con luz ultravioleta, hace notar que contienen en su estructura química dobles enlaces conjugados, como lo estarían en los sistemas de anillo aromático, lo que evidencia compuestos de tipo polifenol, taninos o flavonoides. La posición de las manchas indica también la presencia de grupos funcionales polares (como –OH), para los

compuestos que eluyeron poco o bien que quedaron en la parte inferior de las placas; o bien ausencia de grupos polares para los compuestos que eluyeron hasta la parte superior de la placa.

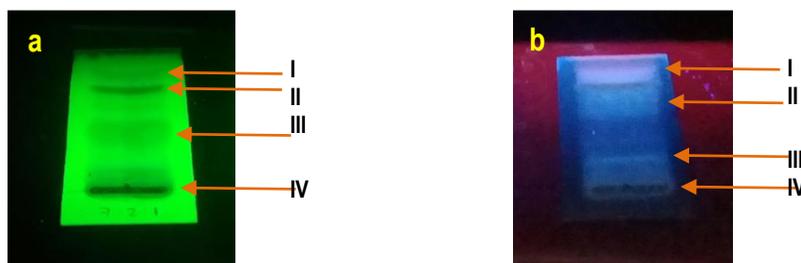


Figura 12. TLC de fitoextracto activo de *D. ambrosioides* en contra de *S. frugiperda*, revelada con luz UV. (a) luz UV a 320 nm y (b) luz UV a 280 nm.

4.1.3.2.2. Revelador químico (sulfato cérico amoniacal)

A través del revelado con sulfato cérico amoniacal y calor se provocó la oxidación de ciertos compuestos que revelaron como manchas oscuras e intensas (Figura 12). A través del revelado químico se logró visualizar dos manchas (VIII y IX) indicando que de los compuestos observados a través de luz ultravioleta corresponderían a las manchas II y IV; el resto de las manchas corresponden a compuestos incapaces de ser oxidados.

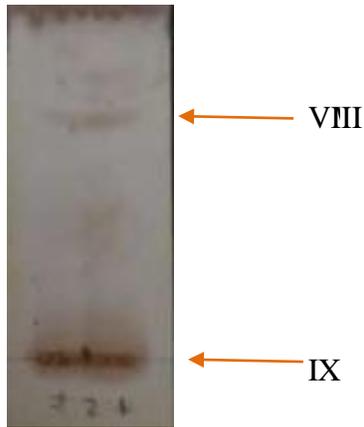


Figura 13. TLC de fitoextracto activo de *D. ambrosioides* en contra de *S. frugiperda*, revelada con sulfato cérico amoniacal y calor

Es ampliamente conocido que el orden lepidoptera incluye un gran número de especies de insectos de importancia económica en la agricultura, por el impacto negativo que provocan (Caccia *et al.*, 2014). Una de las plagas que pertenece a éste género es *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, Lepidoptera: Noctuidae) de origen subtropical y que por ser un insecto herbívoro generalista, se considera una plaga que requiere importante atención para su control, porque provoca pérdidas económicas sumamente altas en el sector agrícola ya que suele afectar severamente diversos cultivos, y conducir a la disminución dramática en los rendimientos de la producción agrícola, de entre un 17 a un 72 % (Murúa *et al.*, 2015).

Al menos todos los cultivos agrícolas en muchos países son vulnerables a infestaciones con *S. frugiperda* cada año, porque ésta plaga suele propagarse por el viento, causando migración y brotes de esta especie plaga cada año en nuevos lugares. El control de esta plaga en campo requiere de 2 a 4 aplicaciones de insecticidas químicos por temporada (Hruska y Gould, 1997). El control del gusano cogollero suele integrar un manejo integrado de plagas, esquema que se requiere por ser

económicamente efectivo y eficiente, y que genera pocos residuos (Bullangpoti *et al.*, 2012). Por otro lado, la coevolución entre las plantas y los insectos, ha conducido a que las plantas desarrollen mecanismos de defensa química eficiente. Es conocido que las plantas tropicales ofrecen una fuente abundante e intrigante de metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas atractivas, como es la actividad insecticida (Rotundo *et al.*, 2019).

Por lo que es sumamente relevante continuar con estudios sobre fitoquímicos (polvos, extractos o compuestos puros) para los cuales se demuestre su actividad insecticida, y que puedan ser empleados para el control sustentable de insectos plaga en campo, porque éstos fitoquímicos o compuestos de origen natural que provienen de fuentes renovables por lo que resultan económicos y lo que es más importante, son de baja persistencia en el ambiente por ser biodegradables (Nava *et al.*, 2012; Leng, *et al.*, 2011; Kubo, 1993).

En este sentido *D. ambrosioides* se posiciona como una especie vegetal que podría ser aplicada para un control sustentable del insecto plaga *S. frugiperda* en diversos cultivos.

CAPÍTULO 5

5.1. Conclusiones

El fitoextracto metanólico de las partes aéreas de *D. ambrosioides* verde mostró actividad insecticida contra *S. frugiperda* a nivel laboratorio, a partir de 250 ppm y hasta 750 ppm generando una mortalidad del 45 % en larvas y 20 % en pupas.

Terpenos, taninos y flavonoides fueron detectados como componentes mayoritarios en el fitoextracto bioactivo de *D. ambrosioides* a través de TLC y por los grupos funcionales que se detectaron por espectroscopía infrarroja.

Se concluye que el fitoextracto metanólico de las partes aéreas de *D. ambrosioides* verde tiene actividad insecticida promisorio contra de *S. frugiperda* al haber reducido peso y generado deformaciones en pupas y adultos, encontrando que es posible controlar en forma amigable esta plaga a nivel laboratorio.

5.2. Perspectivas

Debido a los resultados promisorios obtenidos a nivel laboratorio de *D. ambrosioides* contra *S. frugiperda*, se recomienda continuar con los estudios fitoquímicos, analíticos y biológicos a nivel laboratorio, vivero o campo del fitoextracto metanólico de las partes aéreas de *D. ambrosioides*, contra *S. frugiperda* y otros insectos plaga de interés económico.

REFERENCIAS

- Abott, S. S. (1987). Classic paper: Abbott's formula a method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(2), 302-303.
- Ahmed, S., Grainge, M. (1986) Potential of the Neem tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. *Economic Botany* 40(2), 201-209.
- Aldana Llanos, L. Salinas Sánchez, D. O., Valdés Estada, Ma. E., Gutiérrez Ochoa, M. y Valladares Cisneros, M. G. (2010) Evaluación Bioinsecticida de Extractos de *Bursera copallifera* (D.C.) Bullock y *Bursera grandifolia* (SCHLTDL.) ENGL: en gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (Lepidoptera: Noctuidae). *Polibotánica*, 29, 149-158.
- Aldana- Llanos, L., Rodríguez-Flores, E., Valdés Estrada, Ma. E., Salinas- Sánchez, D.O., Gutiérrez-Ochoa, M., Figueroa-Brito, R. (2012) Actividad de Fitoextractos en *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomológica*, 159-162.
- Álvarez, A. (1991) Reseña histórica y aspectos bioecológicos del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). En Memorias Seminario *Spodoptera frugiperda* (El gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. Socolen-Cis. Calí, Colombia. 12-16.
- Belmain, S. R., Amoah B. A., Nyirenda S.P., Kamanula, J.F. y Stevenson P.C. (2012) Highly variable insect control efficacy of *Tephrosia vogelii* chemotypes. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 60 (40), 10055- 10063.

- Bermúdez-Torres, K., Martínez Herrera, J., Figueroa Brito, R., Wink, M. y Legal, L. (2009) Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *BioControl*, 54, 459- 456.
- Bhawani, S. A., Sulaiman, O., Hashim, R., & Ibrahim, M. N. (2010). Thin-layer chromatographic analysis of steroids: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9 (3), 301-313.
- Blanco, C. A., Pellegaud, J. G., Nava.Camberos, U., Lugo-Barrera, D., Vega.Aquino, P., Coello, J., Terán-Vargas., A.P., y Vargas-Camplis, J. (2014) Maize Pests in México and Challenges for the Adoption of Integrates Pest management Programs. *Journal of Integrated Pest Management*. 5 (4), 1-9.
- Bryant, J. P., Reichardt, P. B., Clausen, T. P. (1992). Chemically mediated interactions between woody plants and browsing mammals. *J. Range Manage*, 45, 18-24.
- Bullangpoti, V., Wajnberg, E., Audant, P., Feyereisen, R. (2012) Antifeedant activity of *Jatropha gossypifolia* and *Melia azedarach* senescent leaf extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use as synergists. *Pest Manage. Sci.*, 68, 1255-1264.
- Burton, L.R. y Perkins D. (1987) Rearing the corn earworm and fall armyworm for maize resistance studies. Proceedings of the International Symposium on Methodologies for Developing Host Plant Resistance to Maize Insects. CIMMYT. México. 35-37.
- Caccia, M. G., Del Valle, E., Doucet, M. E. and Lax, P. (2014) Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) to the entomopathogenic

- nematode *Steinernema diaprepesi* (Rhabditida: Steinernematidae) under laboratory conditions. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74(1), 123-126.
- Capinera, L. J. (1999) Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae), University of Florida, 98. 9
- Cazmuz, A., Juárez, M. L., Socías, M. G., Murúa, M. G., Prieto, S. Medina, S., Willink, E., Gastaminza, G. (2010) Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.*, 69 (3-4), 209-231.
- Céspedes, C. L., Calderón, J. S., Lina García, L. P. y Aranda, E. (2000). Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of Some Limonoids Isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1903-1908.
- Céspedes, C. L. Martínez-Vázquez, M., Calderón, J. S., Salazar, J. R. y Aranda, E. (2001) Insect Growth Regulatory Activity of Some Extracts and Compounds from *Parthenium argentatum* on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 56 (C), 95-105.
- Céspedes C.L., Salazar, J.R., Martinez, M. y Aranda, E. (2005) Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. *Phytochemistry*, 66, 2481-2493.
- Chemat, f., Vian, M. A., Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products: concepts and Principles. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 8615-8627.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. (2000) Natural Products (Secondary Metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 24, 1250-1319.

Denloye, A. A. Ajelara, O.K., Oluwu, R. A. Eshilokun, A. O., Makanjoula, W. A. (2009). Insecticidal activity of petroleum ether extract and essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) *Acta Entomologica Sínica*, 52 (8), 923-928

Diamond, J. (2012.) Chapter 1. The local origins of domestication. En: Gepts P., Famula TR., Bettinger R. L., Brush, S. B., Damania, A. B., McGuire, P.E. & Qualset, C. O. (Eds.). *Biodiversity in Agriculture: Domestication, evolution, and sustainability*. Cambridge University Press. 9-17.

Diario Oficial de la Federación. 1999 Norma Oficial Mexicana NOM-003-STPS-1999, Actividades agrícola- Uso de insumos fitosanitarios o plaguicidas e insumos de nutrición vegetal o fertilizantes-Condiciónes de seguridad e higiene. Disponible en: <http://asinom.stps.gob.mx:8145/upload/noms/Nom-003.pdf>

Dietz, F. J., Van der Ploeg, F., Van der Straaten, J. (1991) *Environmental Policy and Economy*. North Holland: Elsevier.

Dysphania ambrosioides. Tropicos [En línea] Disponible en:

<http://www.tropicos.org/Name/50215991>

Duso, C., Malagnini, V., Pozzebon, A., Castagnoli, M., Liguori, M., Simoni, S. (2008) Comparative toxicity of botanical and reduced-risk insecticides to Mediterranean populations of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari Tetranychidae, Phytoseiidae). *Biological Control*, 47(1), 16-21.

- Espinosa García, F. J. y Sarukhán, J. (1997). Manual de malezas del valle de México. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Fernández, R. C. (1994). Control biológico del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith) mediante *Trichogramma sp.* y *Bacillus thuringiensis* Berliner. Tesis profesional de licenciatura, Villaflores, Chiapas, México, 37 p.
- Flores H., R. (2000) Efecto de la variedad de maíz sobre el desarrollo y susceptibilidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis*. Tesis de Maestría, Universidad de Colima. Tecomán, Colima, México. 48
- Franco-Archundia, S. L., Jiménez-Pérez, A., Luna-León, C. y Figueroa-Brito, R. (2006) Efecto tóxico de semillas de cuatro Variedades de *Carica papaya* (Caricaceae) en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomológica Mexicana*, 45(2), 171-177.
- García-Gutiérrez, C., González-Maldonado, M. B., Cortez-Mondaca, E. (2012) Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Ra Ximhai*, 8(3b), 57-70.
- Gómez, F. S., Ramírez, M. B. Gaona, E. F. (2016). Efecto insecticida del polvo de *Chenopodium ambrosioides* L. y carbonato de calcio para el control de *Sitophilus zeamais* en granos de maíz. *Investigación Agraria*, 18(2), 116-120.
- González-Maldonado, M. B., Gurrola-Reyes, N., Chaírez-Hernández, I., (2015). Productos biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista colombiana de Entomología*, 41(2), 200-204.

- Granados-Sánchez, D., Ruíz-Puga, P., Barrea-Escorcía, H. (2008). Ecología de la herbivoría. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 14(1), 51-63.
- Guzmán-Pantoja, L. E., Lina-García, L. P., Bustos-Zagal, G., & Hernández- Velázquez, V. M. (2011) Current status: Mexican medicinal plants with insecticidal potential. *Bioactive Compounds in Phytomedicine*, 39-66.
- Harborne, J. B. (1993). Introduction to Ecological Biochemistry (4th Edition). Academic Press, London. 318.
- Henaó, S., Finkelman, J., Albert L., Koning H. W. (1993) De plaguicidas y salud en las Américas. México, D.F.: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud.
- Hernández-Moreno, D., Soffers, A. E., Falke, H. E., Rietjens, I. M., & Murk, A. J. (2013). Consumer and farmer safety evaluation of application of botanical pesticides in black pepper crop protection. *Food and chemical toxicology*, 56, 483-490.
- Hernández Ruiz, J. Juárez García, R. Hernández Ruiz, N. Hernández Silva, N. (2012). Uso antropocéntrico de especies vegetales en los solares de San Pedro Ixtlahuaca, Oaxaca, México. *Ra Ximhai*, 9(1), 99-108.
- Hernández-Trejo, A., Osorio-Hernández, E., López-Santillán, J. A., Ríos-Velasco, C., Varela-Fuentes, S. E., Rodríguez-Herrera, R. (2018) Insectos benéficos asociados al control de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *Agroproductividad*, 11 (1), 9-14.

- Hernández-Velázquez V. M., Guzmán-Pantoja L. E., Guevara-Fefer, P., Villarreal- Ortega, M. L., León-Rivera, I., Aranda-Escobar, E. y Martínez-Peniche R. A. (2010) Biological Activity of *Ipomoea pauciflora* Martens and Galeotti (Convolvaceae) extracts and fractions on larvae of *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology*, 9(24), 3659-3665.
- Hruska, A. J., Gould, F., (1997). Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): Impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. *J. Econ. Entomol.* 90, 611-622.
- Isa, H., Katsayal, U. A., Agunu, A., Nuhu, A., & Abdulhamid, Z. (2017) Phytochemical screening and thin layer chromatographic profile of *Nauclea diderrichii* leaf extracts. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(1), 281-284.
- Janick, J. (2002) Ancient Egyptian Agriculture and The Origins of Horticulture. *Acta Horticulturae*, 583, 23-39.
- Jaramillo, B. E., Duarte, E., Delgado, W. (2012). Bioactividad del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* colombiano. *Revista Cubana de Plantas medicinales*, 17(1), 54-64.
- Jaramillo, D. A., Jaramillo, G. O., Bustillo, P. A. E., Gómez, L., H. (1989). Efecto del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) sobre el rendimiento del maíz. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 42(1), 25-33.

- Knaak, N., Tagliari, M. S., Machado, V. Fruza, E. L. M. (2012). Actividad Inseticida de Extratos de Plantas Medicinaias sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae). *BioAssay*, 7(1), 1-6.
- Kokanova-Nedialkova, Z., Nedialkov, P. T., & Nikolov, S. D. (2009). The Genus *Chenopodium*: Phytochemistry, Ethnopharmacology and Pharmacology. *Phcog Rev.* 3(6), 280-306.
- Kubo, I. (1993) Insect control agents from tropical plants. In: Downum, K.R., Romeo, J.T., Stafford, H.A. (Eds.), *Phytochemical Potential of Tropical Plants, Recent Advances in Phytochemistry*, vol. 27. Plenum Press, New York.
- Leng, P., Zhang, Z., Pan, G., Zhao, M. (2011) Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*, 10(86), 19864-19873.
- León Rivera, I., Vera Curzio, L., Del Río Portilla, F., Aranda, E. Hernández Velázquez, V. M., Guevara Fefer, P., Montiel, E., Castillo, P. y Salinas Sánchez, D. O. (2013) Resin glycoside from *Ipomoea murucoides* and their Effects on Growth of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Entomology*, 10(1), 24-34.
- Llorente Bousquets, J. y Ocegueda, S. (2008) Estado del conocimiento de la biota. En *Capital Natural de México*. Vol. 1 “Conocimiento actual de la biodiversidad”. CONABIO, México, 283-322.
- Mellado Moreno, K.V. (2007) Determinación de plaguicidas Organoclorados por cromatografía de gases, en agua subterránea en el municipio de Guasave de Sinaloa. Tesis Inédita Universidad Autónoma Agraria, Sinaloa.

- Mohammed Donia, A. E. R., Alqasoumi, S. I., Radwan, A. M., Burand, J. and Craker, L. E. (2012). Phytochemical screening and insecticidal activity of three plants from Chenopodiaceae family. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(48), 5863-5867.
- Moreno Mendoza, M. A., Parada Palacios, E. A., Mejía Valencia, J. G., Espinoza Madrid, P. A. (2013). Toxicología subcrónica de infusión de *Chenopodium ambrosioides* (epazote) por administración oral en ratones NIH. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 18(1), 157-170.
- Murillo, A. (1991) Distribución, importancia y manejo del complejo Spodoptera en Colombia. Memorias Seminario *Spodoptera frugiperda* (El gusano cogollero) en sorgo, maíz y otros cultivos. Cali (Colombia), Sociedad Colombiana de Entomología, 15-23.
- Murúa, M. G., Nagoshi, R. N., Dos Santos, D. A., Hay-Roe, M. M., Meagher, R. L. y Vilardi, J. C. Demonstration Using Field Collections that Argentina Fall Armyworm Populations Exhibit Strain-specific Host Plant Preferences. *Journal of Economic Entomology*, 108(5), 2305-2315.
- Nava-Pérez, E., García-Gutiérrez, C., Camacho-Báez, J. R., Vázquez-Montoya, E. L. (2012) Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 8(3b), 17-29.
- Novo, R. J., Viglianco, A., Nassetta, M. (1998) Efecto antialimentario de extractos de cuatro plantas sobre *Anticarsia gemmatalis* Hub. (Lepidoptera: Noctuidae) *Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas*, 24, 525-530.
- Ongley, E. D. (1997). Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos. (Estudio FAO Riego y Drenaje) - 55. Capítulo 4.

- Okhale, S., Egharevba, H., Ona, E., and Kunle, O. (2012) Phytochemical and proximate analyses and thin layer chromatography fingerprinting of the aerial part of *Chenopodium ambrosioides* Linn. (Chenopodiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(12), 2289-2294.
- Omidbaigi R, Sefidkon F, Nasrabadi FB. (2005) Essential oil content and composition of *Chenopodium ambrosioides* L. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 8, 154-158;
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). (2017) Ciclo Biológico del Gusano Cogollero del Maíz (En América Latina). [En línea] Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i7424s.pdf>
- Organización Mundial de la Salud (OMS; 1992). Empleo inocuo de plaguicidas. Noveno informe del Comité de Expertos en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial. [En línea] Disponible en: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/40227>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS; 2009) The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009. [En línea] Disponible en: http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/
- Osuna Torres, L., Tapia Pérez, M. A. y Aguilar Contreras, A. (2005) Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Barcelona: Publicaciones y Ediciones de la Universidad de Barcelona, 130-131.
- Paixão, A. Mancebo, B. Sánchez, L. M. Walter, A. Fontes.Pereira, A. M. A., Soca, M., Roque, E. Costa, E. y Nicolau, S. (2014) Tamizaje fitoquímico de extractos metanólicos de *Tephrosia*

vogelii Hook, *Chenopodium ambrosioides*, *Cajanus cajan* y *Solanum nigrum* L. de la provincial de Huambo, Angola. *Rev. Salud anim* 36(3), 164-169.

Paredes, D., Campos, M., Cayuela, L. (2013) El control biológico de plagas de artrópodos por conservación: técnicas y estado del arte. *Ecosistemas*, 22(1), 56-61.

Pérez-Gutiérrez, S., Zavala-Sánchez, M. A., González-Chávez, M. M., Cárdenas- Ortega, N. C., Ramos-López, M. A. (2001) Bioactivity of *Carica papaya* (Caricaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecules*, 16, 7502-7509.

Pothitirat, W. and Gritsanapan, W. (2008) Thin-layer chromatography-densitometric analysis of alpha-mangostin content in *Garcinia mangostana* fruit rind extracts. *JAOAC Int.*, 2008; 91(5): 1145-8.

Ramírez, J. A; Lacasaña M. (2001) Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. Artículo de Revisión.

Reigart, J.; Roberts, J. (1999). Recognition and Management of Pesticide Poisonings. EPA, 5th edition. Atlanta, USA. 23 p.

Ramos-López M. A. Pérez G, S., Rodríguez-Hernández, C., Guevara-Fefer, P. y Zavala-Sánchez, M. A. (2010) Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology*, 9(9), 1359-1365.

Ramos-López, M. A., González-Chávez, M. M., Cárdenas-Ortega, N. C., Zavala- Sánchez, M. A. y Pérez Gutierrez, S. (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.

Rapoport. E. H. (2007) Cuántas especies comemos y cuántas existen. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*, Tomo LXI, 373-388.

Rashid, A., Saeed, H. A., Akhtar, L. H., Siddiqi, S. Z. and Arshad, M. (2003) Comparative efficacy of various insecticides to control gram pod bore (*Helicoverpa armigera* Hubner) on chickpea. *Asian J. Plant Sci.*, 2, 403-405.

Real Academia Española de la Lengua. <https://dle.rae.es/srv/fetch?id=Fv6JZwu>

Regnault-Roger, C., Philogène, B. J. R., Vincent, C. (2005) Biopesticides of Plant Origin. Université de Pau et des Pays de l'Adour, *Laboratoire d'écologie*. 313.

Rizk A. M. (1986) Constituents of plants growing in Qatar. *Fitoterapia*; 57, 3-9.

Rodríguez-Flores, E., Aldana- Llanos, L., Valdés Estrada, Ma. E., Salinas- Sánchez, D.O., Gutiérrez-Ochoa, M., Figueroa-Brito, R. (2012). Actividad de Fitoextractos en *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctunidae) *Folia entomológica*, 159-162.

Rodríguez, H. C. (1993). Fitoinsecticidas en el combate de insectos. En: Bases prácticas de la agroecología en el desarrollo centroamericano. Módulo II: Manejo de plagas en el sistema de producción orgánica. San Martín Zapotitlán, Retalhuelu. GT. 112-125.

- Rodríguez, H. C. (1996) Extensión y capacitación en el uso de plaguicidas botánicos. In: Memoria I Taller latinoamericano sobre bioplaguicidas ¿Mito, Placebos o una alternativa en la agricultura sostenible?. Escuela Panamericana de Agricultura. El Zamorano. HN. 1-6.
- Romo-Asunción, D. Ramos-López, M. A., Salinas-Sánchez, Figueroa-Brito, R. Vela-Correa, G. y Vázquez-Martínez B. E. (2016) Evaluación del extracto hexánico del Mirto sobre el gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda*, J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). *Agroecología*, 3, 159-164.
- Rotundo, G., Paventi, G., Barberio, A., De Cristofano, A., Notardonato, I., Russo, V., Germinara, G. S. (2019) Biological activity of *Dictrichia viscosa* (L.) Greuter extracts against adult *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera, Curculionidae) and identification of active compounds. *Scientific Reports*, 9(6429), 1-12.
- Rubinson, K. A., Rubinson, J. F. (2001) Análisis Instrumental. Prentice Hall, Pearson Education S. A.
- Rzedowski, J. (1991a) Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana*, 14, 3-21.
- Rzedowski, J. (1991b) El endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana*, 15, 47-64.
- Rzedowski, G. C. de y Rzedowski, J. (2001) Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

- Salinas-Sánchez, D.O., Aldana-Llanos, L., Valdés-Estrada, Ma. E., Gutiérrez- Ochoa, M., Valladares-Cisneros, M. G. y Rodríguez-Flores, E. (2012) Insecticidal activity of *Tagetes erecta* extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 95(2), 428-432.
- Santilli, J. ¿Qué es agrobiodiversidad? [En línea] Disponible en: <https://uc.socioambiental.org/es/agrobiodiversidade/%C2%BFqu%C3%A9-es-agrobiodiversidad>
- Sosa, A., Díaz, M., Salvatore, A., Bardon, A., Borkosky, S., Vera, N. (2019) Insecticidal effects of *Vernonanthura nebilarum* against two economically important pest insects. *Saudi Journal of Biological Science*, 26, 881-889.
- Sultana, B, anwar, F., Ashraf, M. (2009) Effect of Extraction Solvent/Technique on the antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14: 2167-2180.
- Stevenson P. C., Kite G. C., Lewis G. P., Forest F., Nyirenda S. P., Belmain S. R., Sileshi G. W., Veitch N. C. (2012) Distinct chemotypes of *Tephrosia vogelii* and implications for their use in pest control and soil enrichment. *Phytochemistry*, 78, 135-146.
- Tagliari, M. S., Knaak, N., Fiuza, L. M. (2010).Efeito de extratos de plantas na mortalidades de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E.) Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Arq. Inst. Biol*, 77(2), 259-264.
- Tapondjou, L.A., Adler, C., Bouda, H., Fontem, D.A. (2002). Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 38(4), 395-402.

- Tavares, M. A., & Vendramim, J. D. (2005). Bioactivity of the mexican-tea, *Chenopodium ambrosioides* L., towards *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology*, 34(2), 319-323.
- Tejeda-Reyes, M. A., Solís-Aguilar, J. F., Díaz-Nájera, J. F., Peláez-Arroyo, A., Aybar-Serna, S., Mena-Bahena, A. (2016). Evaluación De Insecticidas en el control de Gusano Cogollero *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz en Cocula, Guerrero. *Entomología Agrícola*, 3, 391-394.
- Toledo, V. M. (1993) La riqueza florística de México: un análisis para conservacionistas. Logros y perspectivas del conocimiento de los recursos vegetales de México en vísperas del siglo XXI, 109-123.
- Trindade, R. C. P., Ferreira, E.S. Gomes, I. B., Silva, L. Sant'ana, A. G. E., Broglio, S. M. F, Silva, M. S. (2015). Extratos aquosos de inhame (*Discorrea rotundata* Poirr.) e de maztruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda*. *Rev. Bras. Pl. Med.*, 17(2),291-296.
- Valladares-Cisneros, M. G., Ríos-Gómez M. Y., Aldana-Llanos, L., Valdés-Estrada, Ma. E. y Gutiérrez-Ochoa, M. (2014) Biological activity of *Crescentia alata* (Lamiales: Bignoniaceae) Fractions on Larvae of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 97(2), 770-777.
- Vázquez Luna, A.; Pérez Flores, L.; Díaz Sobac, R. (2007) Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5 (4), 306-313.

- Vázquez-Covarrubias, D. A., Jiménez-Pérez, A., Castrejón-Ayala, F., Figueroa- Brito, R., Montes-Belmont, R. (2015). Effects of five species of Chenopodiaceae on the development and reproductive potential of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 98(1), 80-85.
- Vázquez-Ramírez, Ma. F., Rangel-Núñez, J. C., Ibarra, J. E., Del Rincón-Castro, Ma. C. (2015) Evaluación como agentes de control biológico y caracterización de cepas mexicanas de *Bacillus thuringiensis* contra el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Interciencia*. 40(6), 397-402.
- Villaseñor, J. L. (2003) Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*, 28, 160-167.
- Villaseñor, J. L. (2004) Los géneros de plantas vasculares de la flora de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 75, 105-135.
- Willink, E. Osorio, E. V. y Costilla, M. A., (1993a) Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, 70, 49-52.
- Willink, E. Osorio, E. V. y Costilla, M. A., (1993b) El gusano "Cogollero": nivel de daño económico. *Avance Agroindustrial* 12, 25-26.
- Zavala, R., Herrera, J., Silva Lara, S., Garzón, D. L. (2016) Evaluación de la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de hojas de epazote (*Chenopodium ambrosioides*). *Investigación*, 12(24), 1-8.