



**UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO**

División de Ciencias Naturales y Exactas

Departamento de Biología

Compuestos químicos naturales de *Argemone* y *Magnolia* con potencial insecticida en la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens*

Tesis que presenta:

B.E. Juana Valeria Hernandez Rocha

Para obtener el grado de Maestra en Ciencias (Biología)

Directora:

Dra. Suria Gisela Vásquez Morales

Co-director:

Dr. Ramón Antonio Zárraga Núñez

Guanajuato, Gto.

Octubre de 2021



Asunto: Terminación de Trabajo de Tesis de Maestría en Ciencias Biología

Dr. Agustín Ramón Uribe Ramírez

Director

División de Ciencias Naturales y Exactas

Estimado Dr. Uribe

Por medio de la presente me dirijo a usted para hacer constar que la tesis presentada por la **Lic. Juana Valeria Hernandez Rocha** con el título **Compuestos químicos naturales de *Argemone* y *Magnolia* con potencial insecticida en la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens***, está APROBADA, aunado a ello, el mencionado trabajo reúne los requisitos exigidos en los lineamientos académicos pertenecientes al programa de Maestría en Ciencias Biología del Departamento de Biología de la Universidad de Guanajuato para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe, para optar al título de **Maestra en Ciencias (Biología)**. A T E N T A M E N T E

21 de octubre de 2021, Guanajuato,
Gto., México

Dra. Suria Gisela Vásquez
Morales

Directora

CAMPUS GUANAJUATO

DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

Col. Noria alta s/n., Guanajuato, Gto., México; C.P. 36050

Teléfono: 01 (473) 732 00 06, Dirección ext. 8106; Secretaría Académica ext. 1437; Departamento de Biología: ext. 8151

www.dcne.ugto.mx

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi preciada familia, por ser mis principales instructores, el motor que permitió mi crecimiento profesional, porque sin ellos no sería lo que soy y sobre todo por haber caminado a mi lado hacia la conclusión de este grado.

A mi madre Jovita, por su inmenso amor y cariño, que en momentos de caída me dió las fuerzas y el coraje para seguir esta travesía.

A mi padre José, por la sabiduría, la valentía y sobre todo por creer en mí.

A mis hermanos Manuel, Marcos y Gerardo, y a mis hermanas Marisol y Adriana por todo su apoyo incondicional y compañía en la buenas y en las malas.

A mi amada abuela Asunción, que, aunque ya no está conmigo, siempre la extraño y sé que siempre me hubiera dado sus palabras de sabias para seguir mis metas y cumplirlas.

A mi hermana Aracely, que siempre la revivo en mis pensamientos y sé que estaría orgullosa de mí.

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad de Guanajuato y la DCNE por abrirme las puertas de sus instalaciones. A cada uno de los profesores que forjaron mi aprendizaje y por haberme compartido su conocimiento, sabiduría y experiencia.

A la Dra. Suria Gisela por ser mi principal guía en el desarrollo de este estudio y la construcción del manuscrito. Por abrirme las puertas del Laboratorio de Botánica e Invertebrados y permitirme ser parte del equipo de trabajo, por su calidad de persona, por toda la confianza que ha depositado en mí y sobre todo por su apoyo, paciencia, asesoría, orientación y valioso tiempo.

Al Dr. Ramón Zárraga por su asesoría y resolver mis dudas e inquietudes durante las revisiones y ensayos. Gracias a mi comité tutorial conformado por el Dr. Juan Pablo Huchin Mian, el Dr. Lázaro Sánchez, la Dra. Nayeli Alva Murillo y la Dra. Vianey Olmedo Monfil, por todas sus sugerencias y consejos, los cuales influyeron en la mejora de este proyecto.

A mis queridos compañeros de maestría, Andy, Lavi y Marcos, que juntos emprendimos este viaje y nos brindamos apoyo y ánimo siempre para salir adelante de cualquier situación, y más en las difíciles. Gracias por cada uno de los instantes efímeros que compartimos, los llevo en mi corazón.

Muchas gracias a mi estimado grupo de colegas del laboratorio Luis Tetúan, Melisa, Erick, Charly y Armando por compartir el mismo gusto y pasión por las plantas y los insectos, por todos el conocimiento intercambiado y sobre todo por todas sus porras y ánimos.

A mis mejores amigas Esthela y Jessy por jugar a ser mis hermanas y compañeras, por estar cerca de mí cuando lo necesité y por absolutamente todo lo que compartimos. A mis queridas roomies Ale, Susi, Brenda, Emery y Sahi que festejaron este gran paso conmigo, por todas las sonrisas intercambiadas, la confianza creada, los momentos mágicos y por lograr que nuestra relación evolucionara cada vez más fuerte.

A mis amigos cercanos de confianza, Gabriel, Gerardo, Isaías, Héctor y Betty por sus palabras de aliento, ya saben que los respeto y los quiero mucho, siempre tendrán un espacio especial en mi corazón por las bellas personas que son, por dentro y por fuera.

Índice

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos	iii
Índice	iv
Índice de figuras.....	ix
Índice de Tablas	x
Índice de ecuaciones	xi
Índice de Apéndices.....	xi
Resumen.....	xii
Abstract.....	xiii
CAPÍTULO I	1
1. Introducción	1
1.2. La fruticultura en México	2
1.3. Biología de <i>Anastrepha ludens</i> (Loew)	3
1.4. Métodos de control de plagas	6
1.4.1. Plaguicidas	7
1.4.2. Bioplaguicidas	8
1.5. Estudio y análisis de extractos botánicos.....	10
1.5.1. Colecta y preparación del material vegetal.....	10
1.5.2. Extracción por maceración	11
1.5.3. Polaridad de las moléculas de estudio para su aislamiento	11
1.5.3.1. Terpenos no polares	12
1.5.3.2. Terpenos moderadamente polares	12
1.5.3.3. Fenoles	12
1.5.3.4. Alcaloides	13
1.5.4. Detección fitoquímica cualitativa	13
1.5.5. Técnicas de separación	13
1.5.5.1. Cromatografía de columna (CC).....	14
1.5.5.2. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	14
1.5.5.3. Cromatografía en capa fina (TLC).....	15
1.5.5.4. Cromatografía de gases (GC)	15
1.5.6. Técnicas analíticas instrumentales.....	16
1.5.6.1 Detector ultravioleta-visible (UV-Vis)	16

1.5.6.2. Detector de arreglo de fotodiodos (PAD) o de diodos (DAD)	16
1.5.6.3. Detector de ionización de flama (FID)	17
1.5.6.4. Espectrometría de masas (MS)	17
1.5.6.5. Espectroscopía de Infrarrojo (IR)	19
1.5.6.6. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (NMR).....	20
1.5.7. Técnicas hífenadas	20
1.5.8. Estrategias para la búsqueda de compuestos	21
1.5.9. Estrategias de identificación	22
1.5.10. Etapas de la elucidación estructural.....	23
CAPÍTULO II.....	25
2. Antecedentes	25
2.1. Métodos de control para <i>Anastrepha ludens</i>	25
2.1.1. Malatión	27
2.1.2. Bioinsecticidas basados en extractos botánicos.....	28
2.2. Justificación	30
2.3. Hipótesis	31
2.4. Objetivos.....	31
2.4.1. Objetivo general.....	31
2.4.2. Objetivos específicos	31
2.5. Biología de especies botánicas	32
2.5.1. <i>Argemone ochroleuca</i>	32
2.5.2. <i>Magnolia vovidesii</i>	34
CAPÍTULO III	37
3. Materiales y metodología.....	37
3.1. Búsqueda bibliográfica de compuestos aislados de <i>Argemone spp</i> y <i>Magnolia spp</i>	37
3.2. Clasificación de los compuestos encontrados.....	37
3.3. Investigación del rol biológico de los principales grupos de compuestos encontrados	38
3.4. Selección de los grupos de compuestos químicos	38
3.5. Selección de los compuestos candidatos	38
3.6. Investigación de rutas metabólicas y modo de acción	39
3.7. Protocolo de investigación.....	40
CAPÍTULO IV.....	41
4. Resultados.....	41

4.1. Revisión de compuestos químicos aislados de especies botánicas.....	41
4.1.1. <i>Argemone</i> spp	41
4.1.2. <i>Magnolia</i> spp	41
4.2. Funciones biológicas (fisiológica-ecológica) de los grupos de metabolitos secundarios aislados de las especies botánicas.	42
4.2.1. Terpenos.....	42
4.2.1.1. Monoterpenos y sesquiterpenos.....	46
4.2.2. Compuestos Fenólicos	48
4.2.2.1. Fenoles libres, ácidos fenólicos y fenilpropenos	51
4.2.2.2. Lignanos y neolignanos	53
4.2.2.3. Flavanonas y flavonas.....	54
4.2.3. Alcaloides	56
4.2.4. Lípidos	60
4.2.4.1. Lípidos de semilla	61
4.2.4.2. Lípidos de la sarcotesta.....	61
4.3. Grupos de compuestos químicos seleccionados con potencial insecticida.....	62
4.4. Selección de compuestos candidatos y descripción de rutas de biosíntesis y modos de acción.....	62
4.4.1. <i>Argemone</i>	62
4.4.2. <i>Magnolia</i>	67
4.5. Rutas metabólicas de compuestos seleccionados	83
4.5.1. <i>Argemone</i>	83
4.5.1.1. Alcaloides de isoquinolina.....	83
4.5.1.2. Flavonoides.....	85
4.5.2. <i>Magnolia</i>	87
4.5.2.1. Monoterpenos y sesquiterpenos.....	87
4.6. Modos de acción toxicológicos.....	93
4.6.1. <i>Argemone</i>	93
4.6.1.1. Sanguinarina	93
4.6.1.2. Berberina.....	94
4.6.1.3. Protopina	95
4.6.1.4. Queleritrina	95
4.6.1.5. Dihidrosanguinarina.....	95
4.6.1.6. Dihidroqueleritrina.....	96
4.6.1.7. Copsitina	96

4.6.1.8. Allocriptopina	96
4.6.1.9 Eriodictiol	97
4.6.1.10. Luteolina	97
4.6.2. <i>Magnolia</i>	97
4.6.2.1. β -felandreno	97
4.6.2.2. α -terpineno	97
4.6.2.3. α -felandreno	98
4.6.2.4. β -mirceno	98
4.6.2.5. <i>p</i> -cimeno	98
4.6.2.6. β -pineno	98
4.6.2.7. Limoneno	99
4.6.2.8. α -terpineol.....	99
4.6.2.9. β -cariofileno.....	100
4.6.2.10. Óxido de cariofileno	100
4.6.2.11. (E)-nerolidol.....	100
4.6.2.12. β -selineno.....	101
4.6.3. Predicción de modos de acción.....	101
4.7. Propuesta de protocolo de investigación.....	103
4.7.1. Proceso de análisis de muestras	103
4.7.1.1. Colección de material vegetal.....	103
4.7.1.2. Detección fitoquímica cualitativa	103
4.7.1.2.1. Obtención de extractos para detección cualitativa.....	103
4.7.1.2.2. Detección de alcaloides	104
4.7.1.2.3. Detección de terpenos y esteroides	104
4.7.1.2.4. Detección de fenoles	104
4.7.1.2.5. Detección de flavonoides.....	105
4.7.1.3. Determinación de compuestos candidatos en los extractos por medio de Cromatografía en Capa Fina (TLC). Método sencillo.....	105
4.7.1.3.1. Obtención de extracto	105
4.7.1.3.2. Fraccionamiento de extractos	106
4.7.1.3.3. Separación por TLC.....	106
4.7.1.3.4. Determinación de compuestos	107
4.7.1.4. Método desarrollado. Extracción, aislamiento e identificación de compuestos de los extractos.....	107
4.7.1.4.1. Obtención de extracto base	108

4.7.1.4.1. Aislamiento de terpenos no polares	108
4.7.1.4.2. Aislamiento de terpenos con modificaciones (medianamente polares)....	110
4.7.1.4.3. Aislamiento de fenoles y flavonoides	111
4.7.1.4.4. Aislamiento de alcaloides	113
4.7.1.5. Caracterización y elucidación de compuestos no identificados.....	115
4.7.1.5.1. Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)	115
4.7.1.5.2. Resonancia Magnética Nuclear (NMR).....	115
4.7.2. Proceso de evaluación de muestras.....	116
4.7.2.1. Traslado y montaje de insectos	116
4.7.2.2. Bioensayos de toxicidad por ingestión	116
4.7.2.3. Bioensayos de toxicidad por ingestión de los compuestos candidatos.....	117
4.7.2.4. Bioensayos de toxicidad por ingestión de los extractos etanólicos	117
4.7.2.5. Bioensayos de toxicidad por ingestión de las particiones o fracciones	118
4.7.2.6. Análisis de datos	118
CAPÍTULO V	118
5. Discusiones	118
CAPITULO VI.....	132
6.1. Conclusiones.....	133
6.2. Perspectivas	134
REFERENCIAS	134
APÉNDICES	188

Índice de figuras

Figura 1.1. Estatus fitosanitario de moscas nativas de la fruta en México (SENASICA, 2020).....	6
Figura 2.1. <i>Argemone ochroleuca</i> Sweet, 1828 (Chicalote).	33
Figura 2.2. <i>Magnolia vovidesii</i> Vásquez-García, 2013	36
Figura 4.1. Biosíntesis de DMPP e IPP a partir de la ruta del 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP) plastidial derivado del piruvato	44
Figura 4.2. Biosíntesis de DMPP e IPP a partir de la ruta del mevalonato citosólico derivado del acetil-CoA (MEV)	45
Figura 4.3. Los mayores roles centrales de los terpenoides en ecosistemas y comunidades terrestres de plantas superiores	47
Figura 4.4. Biosíntesis de compuestos fenólicos	50
Figura 4.5. Vía para la biosíntesis de flavonoides	55
Figura 4.6. Ruta para la biosíntesis de isoquinolinas	59
Figura 4.7. Grupos de compuestos químicos seleccionados con potencial insecticida ..	62
Figura 4.8. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en <i>Argemone</i> spp	63
Figura 4.9. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en <i>Magnolia</i> spp.	68
Figura 4.10. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en <i>Magnolia</i> spp.	69
Figura 4.11. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en <i>Magnolia</i> spp.	69
Figura 4.12. Biosíntesis de 6, 9, 5, 7, 8, 4 y 2, compuestos candidatos de <i>Argemone</i> (alcaloides de isoquinolina).....	84
Figura 4.13. Biosíntesis de 9, compuesto candidato de <i>Argemone</i> (alcaloides de isoquinolina).....	85
Figura 4.14. Ruta de biosíntesis de compuestos candidatos de <i>Argemone</i> (eriodictiol y luteolina).....	87
Figura 4.15. Rutas de biosíntesis de los monoterpenos candidatos de <i>Magnolia</i> , 10, 6, 7, 5 y 12	89
Figura 4.16. Biosíntesis de 8, 3 y 14, monoterpenos candidatos de <i>Magnolia</i>	90
Figura 4.17. Biosíntesis de 37 y 53, sesquiterpenos candidatos de <i>Magnolia</i>	91
Figura 4.18. Biosíntesis de 47, sesquiterpeno candidato de <i>Magnolia</i>	92
Figura 4.19. Biosíntesis de 63, sesquiterpeno candidato de <i>Magnolia</i>	93
Figura 4.20. Protocolo estándar para obtener los extractos.	108

Figura 4.21. Extracción, aislamiento y determinación de terpenos no polares y medianamente polares.	110
Figura 4.22. Extracción y aislamiento de fenoles libres y flavonoides	112
Figura 4.23. Extracción y aislamiento de alcaloides de tipo isoquinolinas.....	114

Índice de Tablas

Tabla 4.1. Clasificación de los principales grupos de compuestos químicos de metabolitos aislados en el género <i>Argemone</i>	41
Tabla 4.2. Clasificación de los principales grupos de compuestos químicos de metabolitos aislados en el género <i>Magnolia</i>	42
Tabla 4.3. Clasificación de los compuestos fenólicos	48
Tabla 4.4. Principales tipos de alcaloides y sus agrupaciones químicas	57
Tabla 4.5. Potencial biocida de compuestos de semilla de <i>Argemone</i> spp contra artrópodos	64
Tabla 4.6. Porcentajes de composición de compuestos de los grupos químicos seleccionados de <i>Argemone</i> . Los valores están ordenados de mayor a menor.....	67
Tabla 4.7. Potencial biocida de compuestos de <i>Magnolia</i> contra artrópodos	70
Tabla 4.8. Porcentajes de composición de monoterpenos de <i>Magnolia</i> . Los valores están ordenados de mayor a menor.....	78
Tabla 4.9. Porcentajes de composición de sesquiterpenos de <i>Magnolia</i> . Los valores están ordenados de mayor a menor.....	79
Tabla 4.10. Predicción del modo de acción de compuestos candidatos	102
Tabla 4.11. Proporciones de los solventes para la fase móvil en TLC.....	107

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Fotoionización de la sanguinarina y producción de singletes de O ₂	94
Ecuación 2. Fórmula para calcular concentración de extractos botánicos	106
Ecuación 3. Fórmula de Abbott (1987).	118

Índice de Apéndices

Tabla 4.1. Número total de compuestos encontrados en las semillas de cuatro especies de <i>Argemone</i>	188
Tabla 4.2. Número total de compuestos encontrados en frutos y semillas completos y sarcotesta de cinco especies de <i>Magnolia</i>	190
Tabla 4.3. Porcentajes de composición de compuestos fenólicos y alcaloides de <i>Magnolia</i> . Los valores están ordenados de mayor a menor	197

Resumen

La mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens*) es una plaga que afecta frutos de importancia comercial provocando pérdidas económicas. El control químico es una de las estrategias usadas para su contención en el cual se asperjan cebos mezclados con insecticidas. El malatión es uno de los insecticidas más utilizados en este método, sin embargo, genera efectos adversos en organismos no objetivos y al ambiente en general. Los bioinsecticidas botánicos y compuestos naturales con propiedades insecticidas se presentan como una excelente alternativa al uso de malatión, principalmente porque son biodegradables y garantizan mayor seguridad para organismos que no son plaga. En estudios previos en nuestro grupo de trabajo, los extractos etanólicos de semilla de *Argemone ochroleuca* y de sarcotesta de *Magnolia vovidesii* han mostrado alta efectividad insecticida contra *A. ludens* (96 y 88%, respectivamente). El objetivo de este estudio consistió en una investigación bibliográfica de fitoquímicos aislados de *Argemone* spp y *Magnolia* spp, con la finalidad de identificar compuestos candidatos con potencial insecticida en *A. ludens* y además, obtener información acerca de sus biosíntesis y modos de acción. Con este estudio de revisión se encontró que los mayores grupos de moléculas que pueden tener actividad insecticida en *A. ludens* son los terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides. Bajo el empleo de cuatro criterios de selección, los compuestos candidatos del género *Argemone* spp fueron sanguinarina (6), berberina (9), protopina (5), queletrina (8), dihidrosanguinarina (1), dihidroqueletrina (2), cospitina (7), allocriptopina (4), eriodictiol (29) y luteolina (28). Mientras que los compuestos del género *Magnolia* spp fueron β -cariofileno (37), β -felandreno (10), α -terpineno (6), α -felandreno (7), mirceno (5), *p*-cimeno (12), óxido de cariofileno (53), (E)-nerolidol (63), β -pineno (3), limoneno (8), β -selineno (47) y α -terpineol (14). Sus rutas de biosíntesis se ven favorecidas ante la presencia de organismos que causan daño, como los insectos y sus modos de acción resultaron ser diversos. Los hallazgos de este estudio bibliográfico encaminan a proseguir en el estudio experimental para determinar y evaluar los compuestos candidatos, así como estudiar químicamente los extractos botánicos que, a largo plazo, pueden ser alternativas sostenibles al uso de malatión para controlar a *A. ludens*.

Abstract

The Mexican fruit fly (*Anastrepha ludens*) is a pest affecting commercially important grow crops causing relevant economic losses. Chemical control is one of the strategies used for its control, where baits mixed with insecticide are sprayed. Malathion is one of the most widely used insecticides in this method, however, it has adverse effects on non-target organisms as well as the environment. Botanical bioinsecticides and natural compounds with insecticidal properties are an excellent alternative to the use of malathion. Mainly due to they are biodegradable and ensure a greater safety for non-pest organisms. Previous work on our group demonstrated that ethanolic extracts of *Argemone ochroleuca* seed and *Magnolia vovidesii* sarcotesta had shown high insecticidal effectiveness against *A. ludens* (96 and 88%, respectively). The aim of this study was to conduct a literature review of phytochemicals isolated from *Argemone* spp and *Magnolia* spp, to identify candidate compounds with insecticidal potential against *A. ludens*, and to obtain information about their biosynthesis and modes of action. This review study found that the major groups of molecules that may have insecticidal activity on *A. ludens* are terpenes, phenolic compounds, and alkaloids. Using four selection criteria, candidate compounds from the genus *Argemone* spp. were sanguinarine (6), berberine (9), protopine (5), chelerythrine (8), dihydrosanguinarine (1), dihydrochelerythrine (2), copsitine (7), allocryptopine (4), eriodictyol (29), and luteolin (28); and those of the genus *Magnolia* spp were β -caryophyllene (37), β -phellandrene (10), α -terpinene (6), α -phellandrene (7), myrcene (5), p-cymene (12), caryophyllene oxide (53), (E)-nerolidol (63), β -pinene (3), limonene (8), β -selinene (47), and α -terpineol (14). Their biosynthetic pathways are favored in the presence of treat organisms such as insects, and their modes of action were found to be diverse. The findings of this literature review point to further experimental study to determine and evaluate the candidate compounds, as well as to chemically study botanical extracts may become sustainable alternatives to the use of malathion to control *A. ludens* in the long term.

CAPÍTULO I

1. Introducción

Ante un incremento demográfico y contando más de 7,800 millones de habitantes en el mundo, es evidente que la producción de alimentos agrícolas también aumenta (FAO, 2017a). Anualmente, millones de toneladas de frutas y verduras son producidas alrededor del mundo y una de las tareas más importantes es el control y la protección de cultivos contra plagas (Oerke, 2006).

El concepto de plaga está estrechamente relacionado con los niveles numéricos de un organismo que pueden adquirir la condición de convertirse en amenaza potencial. De acuerdo con la NOM-032-FITO-1995 (Zavala, 1995), una plaga agrícola es una forma de vida vegetal, animal o agente patogénico, dañino o potencialmente dañino a los vegetales. Estas son capaces de destruir porcentajes significativos de la producción agrícola en sus diferentes fases de crecimiento e incluso durante el almacenamiento o postcosecha (Badii, Landeros & Cerda, 2015). De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y Agricultura (FAO) hasta un 40% de la producción agrícola mundial se pierde por causa de las plagas (FAO, 2020a).

Los principales tipos de plagas provienen de los artrópodos y pertenecen principalmente a cuatro grupos: acáridos, crustáceos, hexápodos y miriápodos. De estos, la clase Hexapoda (insectos) son los de mayor importancia, ya que generan el mayor número de plagas en la agricultura. Los órdenes implicados en el fenómeno de plagas son Orthoptera, Thysanoptera, Hemiptera, Homoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera y Diptera (Selfa & Anento, 1997; Altieri & Nicholls, 2007).

Las plagas se pueden dividir de acuerdo con su afectación económica en dos clases, las habituales y las cuarentenarias. Las de ocurrencia habitual normalmente afectan y están presentes en el cultivo, pero tienen menor impacto económico y por ello, se tolera su presencia. Si ésta plaga se desarrolla fuertemente y daña de forma importante el rendimiento, es posible controlarlas eficazmente con métodos de control conocidos. Las plagas cuarentenarias, por el contrario, son de importancia económica potencial para el área en peligro donde aún no se encuentran presentes. Dado el caso de que estuviera

presente la plaga e incluso distribuida, no solo el control resultaría difícil, sino que su sola presencia influye negativamente en la comercialización (Inostroza & Mendez, 2009; Moreno, 2000).

Debido que las plagas se originan cuando las prácticas de agricultura son inadecuadas y éstas rompen con el equilibrio ecológico, principalmente por el uso de plaguicidas químicos, la FAO (2016) promueve el Manejo Integrado de Plagas que consiste en vigilar, regular y controlar las plagas, utilizando métodos apropiados que sean compatibles con las características del medio natural, reduciendo al máximo posible el uso de plaguicidas tóxicos que afectan la vida de organismos no objetivos, el ambiente y los recursos naturales. Sin embargo, hay poca difusión de la información y falta de concientización entre los agricultores.

1.2. La fruticultura en México

(Agustí y Fonfría, 2010). México ocupa el tercer lugar de América central en especies frutícolas comestibles, desde las más exóticas hasta las más comunes y domesticadas (Kermath, *et al* 1992; Popenoe, 1952). De esta manera, nuestro país ha logrado desarrollarse dentro del sector frutícola a nivel internacional y la fruticultura se convirtió en una de las actividades económicas más redituables para el país, ya que favorece indirectamente la generación de empleos y la economía rural (Garay, *et al* 2011; Arias, 2010; SAGARPA, 2017; INAES, 2017; SADER, 2013; SADER, 2020).

La fruticultura mexicana y su producción se ve afectada por diversas plagas que merman la calidad y cantidad de los frutos aptos para comercializarse. En 2016, en el estado de Nayarit se estimó una pérdida de 1,340,321 toneladas de frutas causado por diversas plagas y enfermedades (SAGARPA, 2016). Por lo tanto, la implementación de metodologías que controlen a estos organismos es una de las labores más imprescindibles.

Las actividades fundamentales para prevenir que las plagas afecten los frutales del campo mexicano es la operación de programas y campañas fitosanitarias establecidas y coordinadas por el Servicio Nacional de Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), que se vincula a su vez con productores e instituciones a nivel estatal,

federal e internacional. Con la finalidad de detectar, controlar y prevenir la dispersión de plagas en el territorio nacional (SENASICA, 2021).

Actualmente, se encuentran en marcha programas fitosanitarios para el control de plagas tefritidas cuarentenarias, como son las moscas tefritidas de la fruta en México, en especial la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens*. Estos insectos ocasionan grandes disminuciones en la calidad de los productos frutícolas y por consecuencia pérdidas económicas al país (Agroasemex, 2019).

1.3. Biología de *Anastrepha ludens* (Loew)

Tephritidae es una de las familias más importantes del orden Díptera y sus principales géneros son *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis* y *Rhagoletis* (Hernández-Ortiz, 2010; Capinera, 2008; Aluja & Norrborn, 1999).

Clase: Insecta

Orden: Diptera

Infraorden: Brachycera

Sección: Schizophora

Subsección: Acalyptratae

Superfamilia: Tephritoidea

Familia: Tephritidae

Una de las características más prominentes de la familia es la presencia de una vaina ovipositora quitinizada y un ovipositor puntiagudo en las hembras que sirve para perforar los tejidos vegetales e introducir sus huevos (Capinera, 2008). Además, tienen alas vistosas de patrones destacados con manchas o rayas de colores fuertemente contrastantes (Christenson & Foote, 1960).

Naturalmente, las moscas de la fruta se asocian con su hospedero vegetal, el cual sirve como sustrato alimenticio para los estadios larvarios (Bateman, 1972). Por esta razón algunos miembros de Tephritidae se han convertido en plagas muy dañinas para especies

frutales de importancia comercial (White & Elson-Harris, 1992). Esto ha obligado a los países a imponer estrictas restricciones cuarentenarias con el fin de impedir la introducción de moscas de la fruta (Schutze, *et al* 2017).

Las hembras ovipositan los huevos dentro de la fruta, surge la larva y para cuando ésta llega a un tamaño completo, la fruta cae al suelo, entonces la larva emerge y se adentra al suelo para su proceso de transformación a pupa (Stone, 1942). Las larvas, que usualmente se alimentan de la parte pulposa, destruyen y hacen la fruta no apta para su comercialización y consumo. Asimismo, la picadura de la mosca en la fruta se convierte en una vía de entrada para hongos y bacterias, llevándola a su estado de putrefacción (Hernández-Ortiz, 2010).

El género *Anastrepha* es el grupo nativo con mayor diversidad de especies de la Región Neotropical, que va desde el sur de EUA hasta Chile y Argentina, con más de 250 especies (Norrbon, 2014; Hernández-Ortiz, 2007). En México se distribuyen aproximadamente 39 especies de *Anastrepha* (Berrones-Morales, 2020). Las características más específicas que distinguen a las especies de este taxón son los patrones que estructuran las alas y el tipo de diseño del órgano ovipositor (Christenson & Foote, 1960; Oliveira *et al* 2019a).

Las plantas hospederas naturales de *Anastrepha* spp comprenden aproximadamente 54 especies de 18 familias, de éstas 24 son nativas de América, 22 son exóticas y el resto se desconoce su origen (Aluja & Liendo, 2013). La gran mayoría de las *Anastrepha* spp son monófagas, estenófagas u oligófagas, pero las especies de importancia cuarentenaria en México son polífagas, siendo *Anastrepha fraterculus* (mosca Sudamericana de la fruta), *A. ludens* (mosca mexicana de la fruta), *A. obliqua* (mosca de las Indias Occidentales), *A. serpentina* (mosca de los zapotes) y *A. striata* (mosca de las guayabas; Ordano, 2013).

La mosca mexicana de la fruta *A. ludens* posee un tamaño entre 6-8 mm de longitud y es de color café-amarillo. El ovipositor de la hembra mide de 3.4 a 4.7 mm y tiene dientes escasos no muy pronunciados que cubren casi por completo la punta. En los genitales, los machos poseen un par de claspers robustos (SAGARPA, 2018). El tipo de desarrollo morfológico que presenta *A. ludens* es holometábolo, o bien, metamorfosis completa. En este proceso son evidentes las fases de huevo, larva, pupa e imago, que éste último se refiere al último estadio de desarrollo (Brusca & Brusca, 2003).

Tras un cortejo complejo la hembra elige al macho más apto para copular. La hembra fertilizada desarrolla sus huevos en aproximadamente 3-4 días y mientras tanto se dedica a buscar el sitio de oviposición. Un macho puede ser dominante entre los demás machos y lograr hasta el 60% de las copulas (SENASICA, 2017). La hembra oviposita sus huevos dentro del fruto hospedero, la cual puede depositar hasta 102 huevos en un día y aproximadamente 2000 en toda su vida (Leyva, 1991; Celedonio-Hurtado, *et al* 1988).

Los huevos eclosionan después de 6 a 12 días y la larva se alimenta de la pulpa del fruto durante 15 a 32 días a una temperatura de 25°C (SENASICA, 2017). Durante ese tiempo transcurren tres estadios larvarios, siendo el tercer estadio aquel que presenta un alto grado de tolerancia a temperaturas más altas (46°C; García, 2009). Pasado el periodo larvario, la larva se tira al suelo para empezar la pupación. La duración del proceso de pupación está influenciado por el cambio de estaciones. En épocas de invierno las pupas sobreviven hasta tres meses, pero en verano solo 3 semanas (Thomas, 1997). Cuando las condiciones son óptimas la eclosión de pupas ocurre de 15 o 19 días.

Los especímenes adultos alcanzan su madurez sexual entre los 7-9 días, las hembras normalmente ovipositan a los 11 días y a partir de ahí la oviposición ocurre continuamente durante toda su vida. En condiciones naturales las moscas pueden vivir de 10-18 días (Gallardo, 2017). El estado adulto puede vivir de 15 días hasta ocho meses dependiendo de las condiciones ambientales, aunque experimentos en laboratorio encontraron que la mosca puede tener una longevidad de 50 días y madurar sexualmente hasta los 14 días. (SENASICA, 2018; Carey, 2005).

La cantidad de ciclos biológicos en determinado tiempo dependerá de las condiciones ambientales y la disponibilidad de alimento. En el trabajo de Thomas (2003) se estudió la abundancia de moscas silvestres de *A. ludens* en dos ciudades de Nuevo León durante cinco años. Sus resultados sugieren que la mayoría de las veces *A. ludens* es una especie bivoltina, capaz de dar dos generaciones por año, aunque es posible que pueda llegar a tres generaciones. Las mayores abundancias se dieron en primavera (marzo-abril), a principios de verano (junio-julio) y a finales de otoño (octubre-noviembre).

Los picos de población más altos de *A. ludens* están correlacionados con los tiempos de fructificación y desarrollo de fruto. Se estudiaron las fluctuaciones poblacionales en huertos de mango (*Manguifera indica*) y naranja Valencia (*Citrus sinensis*) ubicados en

Campeche, Campeche, en donde se encontró que las poblaciones más grandes de *A. ludens* oscilan entre los meses de abril a agosto, el cual coincide con el tiempo de la formación del fruto, y además con los periodos de máxima precipitación (Tucuch-Cauich, et al 2008).(Molina-Nery *et al* 2014)

En la actualidad la mosca mexicana de la fruta es monitoreada y controlada por las campañas fitosanitarias emitidas por la SENASICA. En la figura 1.1 se muestra la situación fitosanitaria actual de moscas nativas de la fruta en México (SENASICA, 2020).

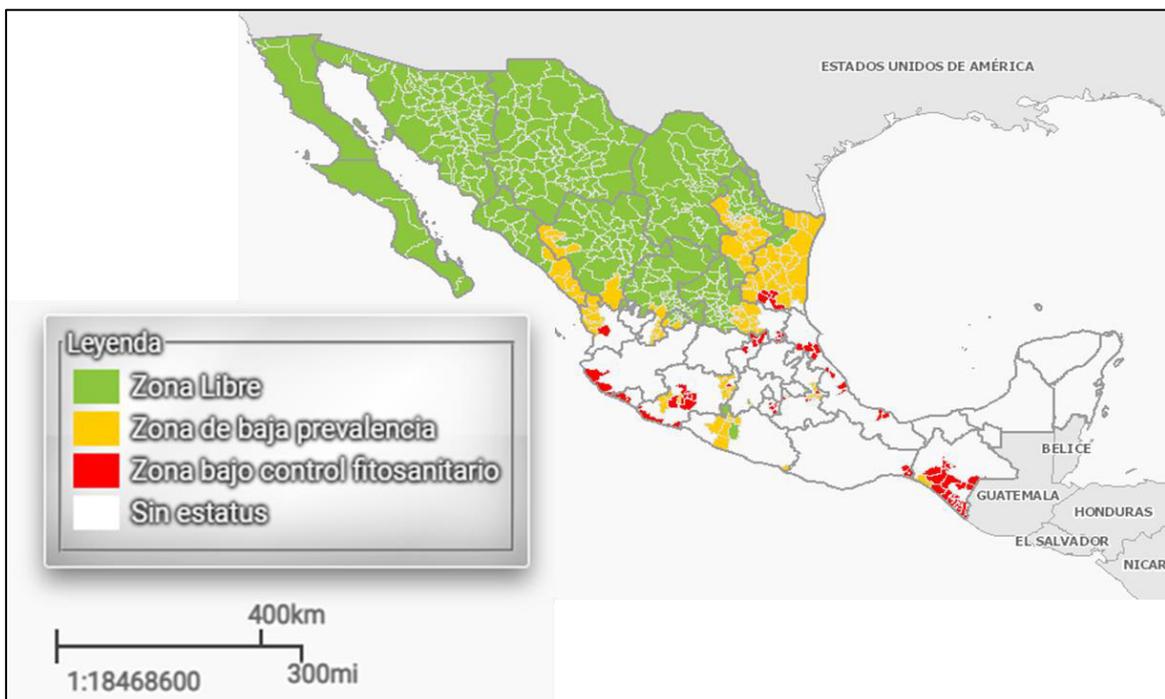


Figura 1.1. Estatus fitosanitario de moscas nativas de la fruta en México (SENASICA, 2020).

1.4. Métodos de control de plagas

Hoy en día hay una gran variedad de opciones para proteger los cultivos, dependiendo de las necesidades y características de la plaga, se puede hacer uso de un solo método o la unión de varios. De acuerdo con la FAO (2020b) los métodos para controlar las plagas se han clasificado en dos grandes grupos, plaguicidas y bioplaguicidas.

1.4.1. Plaguicidas

La FAO (2021) define los plaguicidas como cualquier sustancia o mezcla de sustancias químicas destinadas a repeler, destruir y controlar cualquier plaga. Generalmente, se caracterizan por ser de amplio espectro, altamente efectivos y la gran mayoría contaminantes. Los plaguicidas son las principales armas del control químico. Dependiendo el organismo objetivo, se les puede dividir en insecticidas, acaricidas, fungicidas, bactericidas, molusquicidas y otros más (Gilden, 2010).

Los plaguicidas han tenido un papel importante en el ámbito agrícola, y por supuesto para la fruticultura, ya que evitan y reducen pérdidas en la producción. Sin embargo, debido a sus propiedades tóxicas, utilizarlos puede resultar una actividad riesgosa. Con base en su estructura química, los principales grupos de plaguicidas se clasifican en organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (Coats, *et al* 1994).

Los organoclorados (OCs) son un grupo de compuestos clorados. Fueron utilizados entre 1950 a 1991 para el control de plagas y vectores. Debido a la estructura química de sus moléculas son compuestos altamente tóxicos y resistentes a la degradación ambiental y metabólica. Esta baja degradación ha permitido que la persistencia de sus residuos continúe teniendo impactos significativos en los ecosistemas. Estos fueron prohibidos en México en 1999. Los mayores representantes de este grupo son el diclorodifenil-tricloroetano (DDT) y hexaclorociclohexano (HCH), además de otros (Jayaraj, *et al* 2016; Leal Soto, *et al* 2014; Waliszewski, *et al* 2013; Kim & Smith, 2001).

Los organofosforados (OPs) son usualmente ésteres de ácido fosfórico. Han sido ampliamente usados para la protección de cultivos tras el decline de los OCs. El uso extensivo de los OPs ha contaminado fuentes de agua, alimentos agrícolas y alimentos procesados causando efectos adversos en invertebrados, aves, peces y seres humanos. Se consideran compuestos con efectos principalmente neurotóxicos, ya que actúan como inhibidores de la acetilcolinesterasa, enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor de la acetilcolina. Entre los OPs comúnmente utilizados son clorpirifós, paraoxón, malatión, paratión y dianizón (Jayaraj, *et al* 2016; Pundir & Malik, 2019; Pehkonen & Zhang, 2002).

Los carbamatos (CMs) han sido muy usados por décadas en la producción agrícola. Son compuestos orgánicos derivados del ácido carbámico (NH_2COOH) y al igual que los OP, manifiestan neurotoxicidad y están asociados con la inhibición de la acetilcolinesterasa. Entre los estragos causados por su uso está la contaminación de aguas subterráneas y superficiales, además su uso excesivo se ha asociado a linfoma no Hodgkiniano (de Llasera & Bernal-González, 2001; Zheng, *et al* 2001). Aldicarb, carbofurano y carbaril son algunos insecticidas de este grupo y cuando se degradan producen sulfóxidos, sulfones y oxones, que son compuestos aún más tóxicos (Giannuzzi, Ortega & Ventosi, 2018; Coats, *et al* 1994; Gammon, *et al* 2011; Mustapha, *et al* 2019).

Los piretroides (SPs) tuvieron un origen botánico a partir de las piretrinas obtenidas de extractos de flores de *Chrysanthemum* spp (Pyrethrum). Las piretrinas se modificaron químicamente y así se obtuvieron piretroides más poderosos. Los SPs son químicos de amplio espectro usados para el control de plagas, principalmente de insectos y para la medicina veterinaria. Estos actúan sobre los canales de sodio dependientes de voltaje y canales de calcio, de potasio y de cloro dependientes de GABA (ácido gamma-aminobutírico). El uso severo de SPs han generado contaminación en sistemas acuáticos y en el suelo, así como la afectación de organismos benéficos. Lambda-cialotrina, deltametrina, teflutrina, flucitrinato y permetrina son algunos ejemplos de compuestos que pertenecen a los SPs (Cox, 2002; Elliott, 1989; Gammon *et al* 2011; Thatheyus & Selvam, 2013).

1.4.2. Bioplaguicidas

La palabra “bioplaguicida” surge de la contracción plaguicida biológico. La FAO (2017b) lo define como un agente biológico de control de plagas que ocurren naturalmente o que se ha modificado genéticamente y se distingue de los plaguicidas químicos por su modo de acción único y por la especificidad de especies objetivo. Los bioplaguicidas actúan de manera pasiva y son más compatibles con el medio ambiente, la salud de los animales y de los seres humanos. Pueden ser formulados y aplicados como un plaguicida químico convencional y usados normalmente por cortos periodos (FAO, 1988).

Los bioplaguicidas abarcan diversos métodos como control biológico, derivados de plantas, organismos entomopatógenos y entomófagos (nemátodos, hongos, bacterias y virus), metabolitos secundarios de microorganismos y plantas, semioquímicos, control mecánico, trampeo, control autocida y uso de plantas modificadas genéticamente con resistencia a plagas (Singh, 2014).

El control biológico se refiere al uso de organismos vivos como agentes de biocontrol para plagas, malezas y enfermedades. Por lo común, a estos agentes de biocontrol se les denominan enemigos naturales, los cuales se alimentan, compiten por recursos o inhiben de algún modo a las plagas, su crecimiento y propagación. Estos enemigos naturales pueden ser depredadores de invertebrados que se alimentan ya sea en fase larvaria o adulta; de insectos parasíticos (parasitoides y nemátodos) que desarrollan sus huevos dentro del cuerpo de las plagas invertebradas causándoles muerte en el proceso, o de microorganismos (virus, bacterias, hongos, protozoarios) que infectan y debilitan a la plaga llevándola a su muerte (Waage, 2001).

Los plaguicidas naturales provenientes de plantas, bacterias u hongos han tomado un rol importante en la protección de cultivos que a menudo son de acción lenta y suelen ser más seguros para el medio ambiente y el humano. En el caso de plaguicidas naturales con actividad biocida contra insectos plaga se les puede llamar insecticidas naturales o bioinsecticidas. Si estos tienen un origen vegetal se les puede denominar insecticida botánico, a los cuales se les distingue en extractos botánicos y aceites esenciales. Pero si son formulaciones con microorganismos entomopatógenos se les puede referir como insecticidas microbianos (Singh, 2014; Táboraky, 1992). Además, los plaguicidas naturales son una mezcla de sustancias biológicamente activas, por lo que muchos compuestos naturales han sido aislados u obtenidos a partir de estas fuentes biológicas y casi siempre se trata de metabolitos secundarios (Singh, 2014).

Las técnicas de control mecánico y físico son muy diversas. Algunas sencillamente consisten en prácticas de recolección y eliminación manual de insectos, plantas enfermas o frutos caídos infectados para evitar que se reproduzcan y dañen a otras plantas vecinas (FAO, 2011; Jiménez, 2009). Otros utilizan trampas (trampeo) para capturar insectos o invertebrados dañinos. Estas pueden contener dentro simplemente una sustancia pegajosa que no se seque o un atrayente con o sin insecticida. Entre los atrayentes más utilizados están los semioquímicos, que son sustancias químicas naturales de comunicación entre

los organismos (ej. feromonas) y sus propiedades han resultado aprovechables para las técnicas de trapeo (Jiménez, 2009).

El control autocida, o bien técnica del insecto estéril (TIE) fue el primer método de control de plagas en valerse de la genética. La TIE requiere de criar enormes volúmenes de insectos de una especie elegida en una fábrica y esterilizar los machos con dosis de radiaciones ionizantes. La acción de la radiación daña los cromosomas y tienen un efecto letal sobre el esperma. Esta letalidad inhibe la embriogénesis y por lo tanto las hembras no pueden dejar huevos fértiles. Esos machos estériles se liberan en zonas infestadas donde interaccionan con las hembras silvestres. Si la población de machos estériles supera lo suficiente las poblaciones de machos silvestres, la población silvestre pronto se verá reducida (FAO, 1998).

Por último, el control genético se refiere al uso de variedades vegetales modificadas genéticamente a las cuales se les ha introducido en su genoma un gen (o varios genes) de resistencia a plagas. El producto biológico del gen es capaz de sintetizar compuestos que protegen a los cultivos, aumentan su rendimiento y se evita el uso de químicos (Singh, 2014).

1.5. Estudio y análisis de extractos botánicos

1.5.1. Colecta y preparación del material vegetal

Estudios científicos indican que las fluctuaciones estacionales tienen impacto en la disponibilidad de metabolitos que produce una planta (Soni, *et al* 2015). Algunos autores recomiendan que la mejor época de colecta para obtener bioactivos es a finales de verano, mientras que otros concluyen que es en primavera o en invierno (Gouvea, *et al* 2012; Rodríguez Leyes, *et al* 2010). Sin embargo, aún no se dispone de suficiente información para determinar cuáles son los mejores tiempos de cosecha. Realmente, no existen reglas generales para la colecta de la mejor producción de metabolitos secundarios específicos (Soni, *et al* 2015).

VARIABLES como la temperatura, la disponibilidad de agua, la altitud, la presión de la herbivoría y la radiación solar también pueden modificar la concentración de biosíntesis de fitoquímicos (Prinsloo & Nogemane, 2018; Zidorn, 2010). E incluso se ha demostrado que la composición fitoquímica en extractos puede variar con las horas de colecta (Rueda,

et al 2007). Dado estos aspectos es recomendable tratar de realizar una colecta dentro del mismo sitio, además de ser cuidadosos de estar seleccionando el correcto estado fisiológico y que las condiciones de colecta deberían ser, al menos en la mayoría de las veces, constantes (Ramos, *et al* 2004; Cabrera-Carrión, *et al* 2017; Valares Masa, 2011).

La preparación preliminar de la muestra es un paso importante que se refiere a la remoción de la estructura de donde se obtendrán los compuestos, si llevarán proceso de secado o si serán trituradas o molidas. De este paso también depende el número de compuestos fotosensibles o termolábiles degradados. Aquí se define que parte en especial es la que se desea analizar, si son las hojas, el fruto, la corteza o las flores (Hoda, 2019).

La muestra puede ser usada para la extracción en fresco o puede llevar a cabo un proceso de secado por medio de tres vías principales, secado al aire, secado con horno o secado por congelamiento. Posteriormente, la muestra pasa a ser triturada, molida o pulverizada con el fin de reducirla en partículas más pequeñas que ayudan a tener mayor contacto superficial con el solvente para un mayor rendimiento de fitoquímicos (Hames, *et al* 2008).

1.5.2. Extracción por maceración

Para el aislamiento e identificación de fitoquímicos de extractos crudos de plantas, un paso crucial es la selección de un método de extracción, cuyo proceso debe estar rigurosamente coordinado. Al definir un método de extracción se asegura el perfil de los compuestos extraídos y que este sea reproducible (Mandal, *et al* 2015a; Mitra, 2004; Pawliszyn, 2002).

La extracción por maceración es muy sencilla y barata porque solo se requiere de un simple recipiente donde se ponen en contacto la muestra y el solvente. Sin embargo, este método requiere de tiempos largos para que se lleve a cabo la extracción (Tambun, *et al* 2021). Los solventes más comunes para este método de extracción incluyen el metanol, etanol, acetato de etilo y agua destilada. Aunque también es posible el uso de hexano, cloroformo, butanol y propanol, solo teniendo en cuenta su toxicidad y el precio (Dean, 2010).

1.5.3. Polaridad de las moléculas de estudio para su aislamiento

El solvente ideal disuelve la molécula deseada, dejando los otros constituyentes. La polaridad es una propiedad que mide la intensidad de interacción entre las moléculas de un solvente y el soluto. En la extracción de compuestos no polares se aplican solventes no polares y viceversa (Dey, *et al* 2020).

1.5.3.1. Terpenos no polares

Se trata de terpenos lineales o ciclados sin ningún tipo de arreglo o decoración. Están exclusivamente compuestos de hidrocarburos y a eso se debe su apolaridad. Aquellos terpenos no polares con un número de carbonos menor a 15 suelen ser volátiles (emitidos a la atmósfera) ya que su polaridad es muy baja y son pequeños o de bajo peso molecular.

En general los terpenos no polares pueden ser extraídos con un solvente muy apolar como lo es el n-hexano. Durante una cromatografía de columna con sílica, los terpenos apolares con más carbonos usualmente eluirán más lento que los que tienen menos carbonos, mientras que los terpenos ciclados eluirán más rápido que los terpenos lineales (Jiang, *et al* 2016).

1.5.3.2. Terpenos moderadamente polares

Los terpenos pueden adquirir modificaciones que cambian su polaridad, como por ejemplo la adición de grupos funcionales (-OH, -CH₃). En general, el número y tipo de cambios que adapte una molécula aumentará o disminuirá su polaridad. Una estrategia para extraer terpenoides moderadamente polares es usando un método de partición con solvente polar como el cloroformo (Jiang, *et al* 2016).

1.5.3.3. Fenoles

Los compuestos fenólicos pertenecen a la gran familia de alcoholes y en efecto también es miembro de la familia de aromáticos. Debido a esto último, todos muestran una intensa absorción en la región UV del espectro (Rappoport, 2004). Por ende, los métodos espectrales son muy importantes para la identificación y cuantificación de fenoles. El grupo hidroxilo de los fenoles determina su carácter ácido y el anillo bencénico su carácter básico (Khoddami, *et al* 2013).

Estos pueden ser extraídos con mezclas de solventes orgánicos polares bajo condiciones ligeramente ácidas y modular la fuerza de atracción. Comúnmente los solventes usados para la extracción de fenoles son etanol, metanol, acetona, éter etílico y acetato de etilo. Cuando los fenoles son muy polares se pueden realizar mezclas con agua y el solvente orgánico (Stalikas, 2007).

1.5.3.4. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos básicos debido a que contienen nitrógeno. Dicho átomo, acepta protones de ácidos y forman compuestos aditivos conocidos como sales. Los ácidos pueden ser orgánicos como el ácido acético o el ácido tartárico, o pueden ser ácidos inorgánicos como el ácido clorhídrico. La mayoría de los alcaloides son insolubles en agua y moderadamente solubles en solventes orgánicos, como éter o cloroformo. Mientras que sus sales tienen las características de solubilidad opuesta (Yubin, *et al* 2014).

Una mezcla que contiene alcaloides es tratada con ácido acuoso y agitada con un solvente orgánico adecuado, los otros compuestos de la mezcla pueden ser extraídos con la fase orgánica mientras que los alcaloides se quedarán en la fase ácida. La fase ácida es extraída y al alcalinizar los alcaloides son liberados en su forma terciaria, entonces pueden ser extraídos con un solvente orgánico (Maldoni, 1991).

1.5.4. Detección fitoquímica cualitativa

El uso de la caracterización cualitativa o detección fitoquímica cualitativa proporciona la ventaja de averiguar a grandes rasgos qué tipos de metabolitos contiene un extracto. Se basa en utilizar métodos de reacciones bioquímicas con diferentes reactivos que identifican diferentes tipos de moléculas (Mandal, 2015c). Los ensayos de detección fitoquímica son sencillos, rápidos y baratos, y en general dan una idea de cuáles bioactivos constituyen la mezcla y así poder aplicar algún método de análisis para lograr aislar un grupo de compuestos o un compuesto en específico (Thakur & Sidhu, 2013).

1.5.5. Técnicas de separación

El análisis de un extracto continúa con la separación de los constituyentes usando técnicas cromatográficas, o bien, con extracciones líquido-líquido (particiones). El fin de usarlas es obtener separaciones más finas del extracto y así facilitar el aislamiento de compuestos específicos (Mandal, *et al* 2015b).

La partición de un extracto con solventes provee información acerca de la polaridad y de la ionización de los metabolitos que están dentro, influye en la elección de un método de separación cromatográfico y principalmente ayuda a excluir las clases de compuestos a las que no pertenecen los compuestos bioactivos objetivos (Chen, *et al* 2008).

A las separaciones obtenidas se les puede denominar particiones o fracciones, y se pueden seguir separando según sea necesario o pasan directo a su detección e identificación por medio de instrumentación (Dean, 2010).

1.5.5.1. Cromatografía de columna (CC)

La CC se basa en el principio de adsorción. Los componentes son diluidos con una fase móvil que pasa a través de una fase estacionaria empaquetada en una columna. Es muy común usar una fase estacionaria polar como la sílica y alúmina (Al_2O_3). Entonces, la fase móvil (líquida) comienza por ser apolar y posteriormente aumenta la polaridad usando mezclas con solventes más polares. Los compuestos que tenga más afinidad a la fase estacionaria eluirán más lento y los que tengan menor afinidad eluirán primero (Coskun, 2016).

1.5.5.2. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La HPLC básicamente es una forma mejorada de la cromatografía de columna o líquida (LC). Al contrario de utilizar una fase móvil que desciende por fuerza de la gravedad, la fase móvil en HPLC es forzada a avanzar con altas presiones producidas por una bomba y el proceso de separación es más rápido. La técnica también se caracteriza por utilizar tamaños de partículas pequeñas (3-5 μm ; Snyder, *et al* 2011).

Hay dos tipos de HPLC, HPLC de fase normal (NP) y HPLC de fase reversa (RP). La NP-HPLC utiliza una fase estacionaria polar y la fase móvil es apolar. Se le dice normal porque está basada en los principios de separación de CC o LC usando una fase estacionaria como la sílica. Por el contrario, la RP-HPLC utiliza una fase estacionaria no

polar y una fase móvil polar. Una fase estacionaria común en RP es una sílica modificada que tiene cadenas de grupos alquil hidrofóbicos unidos en su superficie, como C18. Por lo que, las moléculas más polares eluirán primero y las menos polares eluirán al final. Esta técnica produce resultados de separación de alta resolución y los compuestos eluidos pueden ser detectados continuamente por un detector acoplado al sistema (Snyder, *et al* 2011).

1.5.5.3. Cromatografía en capa fina (TLC)

Es un tipo de cromatografía que separa los componentes de una muestra en una fase estacionaria fina plasmada en una placa con el movimiento de una fase móvil líquida que asciende por capilaridad. La separación de los componentes depende sobre la competencia entre la adsorción del soluto con la fase estacionaria y la desorción por el disolvente. La fase estacionaria más utilizada es la sílica y el grado de separación dependerá del área superficie del adsorbente disponible (Touchstone, 1992).

Puede hacerse uso de TLC y también de HPTLC, para identificar un compuesto en el extracto, si aquel está disponible como estándar. Si los compuestos presentan T_f (tiempos de retención en HPLC) o R_f (factores de retención de TLC) diferentes, entonces no pueden ser el mismo compuesto. Para asegurar cierto grado de certeza se pueden inyectar o aplicar juntos. Mediante el uso de TLC o HPTLC se puede caracterizar un compuesto desconocido dentro de una mezcla contra un compuesto estándar sin requerir aislamiento preparativo (Ebere, *et al* 2019).

1.5.5.4. Cromatografía de gases (GC)

En esta técnica, la separación de componentes en una mezcla se basa en la partición entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida o sólida. Mientras menos soluble sea el analito en la fase estacionaria más pronto saldrá de la columna y viceversa. La muestra primero se vaporiza y después se inyecta a la columna que tiene un flujo de fase móvil de gas inerte. Cuando la fase estacionaria es sólida es muy común utilizar carbón, sílice o alúmina. Si la fase estacionaria es líquida, la columna es revestida de un sólido (sílica o vidrio) y con un líquido inmovilizado (Akash & Rehman, 2020).

El agua, las sales orgánicas e inorgánicas, las sustancias termolábiles o de alto peso molecular (proteínas, sacáridos, glucósidos, ceras, etc.) y compuestos muy polares (azúcares, polifenoles, aminoácidos, etc.) no son aptos para el análisis por GC y, si eventualmente resultan ser ingresados al equipo, afectan su resolución, sensibilidad e imposibilitan la identificación de analitos (Stashenko & Martínez, 2011).

1.5.6. Técnicas analíticas instrumentales

1.5.6.1 Detector ultravioleta-visible (UV-Vis)

El detector de luz UV-Vis se encuentra unido al sistema de HPLC, el cual mide los analitos después de su separación en la columna. Cuando los compuestos eluyen de la columna, éstos interaccionan con el detector, el cual muestra un espectro de absorción en la región ultravioleta o visible. Estos detectores generalmente solo miden un par de longitudes de onda específicas seleccionadas por el usuario (Reschiglian, *et al* 2001).

Como fuente de luz UV se usa una lámpara de deuterio y para la región visible se usa una lámpara de tungsteno. La estructura interna de un detector sigue por una rajadura de entrada por donde entra la luz UV-Vis, seguido de una lente, un prisma, una rajadura de salida, una celda de flujo y el detector para las medidas de absorción. La luz de las lámparas es pasada por el prisma y dispersada de acuerdo con la longitud de onda. El ángulo del prisma es ajustado en la longitud de onda específica, para que la luz de esta onda pueda brillar (Clark, *et al* 1993).

Los compuestos eluidos de la columna entran a la celda de flujo donde los electrones unidos y no unidos de dichos compuestos pueden absorber la energía de la luz ultravioleta o visible. Los datos finales son mostrados con un software computacional en un cromatograma. El número de picos presentes indica cuantos compuestos están en la muestra y el eje de las *x* muestra los tiempos que se toman los analitos en pasar por la columna y eventualmente por el detector. Además, el eje *y* muestra el área del pico y también refiere a la cantidad o concentración del analito presente (Passos & Saraiva, 2019).

1.5.6.2. Detector de arreglo de fotodiodos (PAD) o de diodos (DAD)

El detector DAD o PAD, es realmente un detector de UV-Vis que tiene un arreglo de numerosos fotodiodos. Mientras el detector de UV-Vis puede detectar un par de longitudes de onda a un rango de tiempo determinado (pj. 220 y 274 nm), el detector DAD puede medir todo un rango de longitud de onda (pj. 190-800 nm) en tiempo real, lo cual confiere más ventajas, entre estas, permite comparar perfiles espectrales para discernir entre dos analitos, presencia de impurezas y saber que longitudes de onda puede absorber el analito. Aunque DAD es dos veces más caro que UV-Vis (Łobiński & Marczenko, 1992; George & Maute, 1982).

1.5.6.3. Detector de ionización de flama (FID)

El detector de ionización de flama se basa en la detección de iones formados durante la combustión en una flama de los compuestos orgánicos, la cual se forma de hidrógeno y aire (oxígeno). Es una técnica de detección y cuantificación adecuada para CG. Para detectar estos iones se utilizan dos electrodos que proveen una diferencia de potencial. El electrodo positivo funciona como el cabezal de la boquilla donde se produce la flama, mientras que el electrodo negativo está posicionado encima de la flama (Huang & Yu, 1990; Zimmermann, *et al* 2002).

Cuando un compuesto orgánico es mezclado dentro de la flama de hidrógeno se generan iones de carbono y una corriente es producida entre los electrodos proporcionalmente a la cantidad de compuestos orgánicos presentes. La corriente es medida por un electrómetro que amplifica la tensión. Los datos finales son mostrados con un programa de software en un cromatograma. El número de picos presentes pueden indicar cuantos compuestos están en la muestra. El eje de las x del cromatograma muestra los tiempos que se toman los analitos en pasar por la columna y eventualmente por el detector. El eje y muestra el área del pico y también refiere a la cantidad o concentración del analito presente (Holm, 1999).

1.5.6.4. Espectrometría de masas (MS)

La MS es una técnica que analiza los compuestos para determinar la masa de sus átomos o de sus moléculas. A través de la fragmentación de iones, también se proporciona información estructural. Cualquier espectrómetro de masas moderno tiene tres componentes principales, una fuente ionizadora, un analizador de masas y un detector.

La fuente de iones es usada para producir iones, el analizador separa los iones en base a su carga-masa (m/z) y el detector cuenta los iones para cada relación m/z (De Hoffmann, 2000).

La ionización por electrospray (ESI) es una técnica muy utilizada para producir iones. Se libera un aerosol muy fino producido con un alto voltaje y cada gota producida va disminuyendo su volumen por la evaporación continua del gas (p. nitrógeno) hasta llegar a la ionización (explosión Coulombica). El proceso inicia cuando los iones entran al analizador por una diferencia de potencial o presión (Cooks, *et al* 2006). Otra fuente de ionización es por impacto electrónico, o ionización por bombardeo. El principio es producir electrones que son acelerados hacia la muestra vaporizada y estos interactúan con los átomos o moléculas. Unos electrones lograrán producir un ion molecular, pero otros se unirán para producir fragmentos. Por lo tanto, los cortes en otras posiciones dentro de la molécula provocarán más iones (Dass, 2007).

Un tipo de analizador de masas es el cuadrupolo, que consiste en cuatro barras de metal alineadas paralelamente. Las barras opuestas están conectadas y se les aplica un voltaje para crear un campo cuadrupolar por donde iones de cierta masa pueden pasar (Steinmann & Ganzera, 2011). Un cuadrupolo triple en secuencia puede funcionar como un filtro de masas. El primer cuadrupolo funciona como un filtro escaneador de cierto rango de masa, mientras que el segundo cuadrupolo funciona como una celda de colisión. En la celda de colisión ocurre la fragmentación con ayuda de un gas colisionador y energía. Entonces los iones pasan al analizador del tercer cuadrupolo (Perchalski, *et al* 1982).

Un analizador de masas muy popular es el tiempo de vuelo (TOF), y es quizás, es el más simple de todos. El principio esencial es que una población de iones que se mueve en la misma dirección y que tiene una distribución de masas, pero una energía cinética constante, tendrá una distribución correspondiente de velocidades inversamente proporcionales a la raíz cuadrada de la m/z . Por lo tanto, los tiempos de llegada de los iones a un plano objetivo serán distribuidos de acuerdo con sus relaciones m/z . Tiene una región de aceleración donde los iones vuelan libremente y con un detector de parada en el extremo. Se mide el tiempo que los iones necesitan para viajar una cierta distancia y entonces se calcula su masa. Los parámetros cruciales son la posición de la fuente de iones, la longitud del tubo de vuelo y el reflectrón. Puede ser acoplado al cuadrupolo (QTOF-MS) o a una trampa de iones (IT-TOF-MS; Håkansson, 1999).

Las trampas de iones son ideales para cuando el analito sufre múltiples fragmentaciones (MSⁿ). Los iones son capturados dentro del analizador de masas y se aplican campos eléctricos a electrodos arreglados en forma de anillos o hiperbólicos. Las principales configuraciones son la trampa de iones en 2D (trampa de iones linear), en 3D (trampa de iones de Paul), la de Orbitrap (trampa electrostática) y la basada en campo magnético (resonancia de ciclotrón iónico; Zubarev & Makarov, 2013; Cai, *et al* 2018).

Los detectores de espectrometría de masas registran la corriente o la carga producida por los iones. Los detectores de instrumentación moderna utilizan la tecnología de placas de microcanales (MCP). Estas son placas delgadas perforadas con diminutos túneles que miden de 6-10 μm de diámetro. Ante la presencia de un campo eléctrico, estos microcanales funcionan como multiplicadores de electrones cuando es golpeado por un ion o un fotón. Entonces la cascada de electrones sale por el extremo opuesto del canal y la corriente resultante es medida por un ánodo. Después de la detección de la señal la placa tiene que ser recargada antes de que detecte otra. Muchos instrumentos no usan solo una, sino dos o tres MCP (Timothy, 2013).

1.5.6.5. Espectroscopía de Infrarrojo (IR)

La espectroscopía de infrarrojo (IR) estudia la interacción de la luz infrarroja con la materia. Con un espectro de infrarrojo es posible saber que compuestos están presentes en la muestra y en que concentraciones. Un tipo específico de espectrómetro de IR es la espectroscopía de infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR), en donde una onda de interferencia interactúa con la muestra. La estructura interna consiste en la fuente de luz, un espejo colimador, un divisor de haz, un espejo móvil, un espejo fijo y el detector (Faix, 1992).

La onda de interferencia es producida en un interferómetro, una computadora controla el interferómetro, para coleccionar y almacenar los datos, y entonces poder realizar la transformación de Fourier. Un haz de luz colimado de la fuente de IR es dirigido al interferómetro donde es dividido por un divisor de haz. Una mitad del haz es reflejado en un espejo fijo y la otra mitad de un espejo móvil. Los dos haces de luz regresan de los espejos y se recombinan resultando un haz de luz reconstruido que ópticamente es una onda de interferencia. El haz de luz de interferencia pasa a través de la muestra y es modificada por la interacción. Se calcula la absorbancia y se obtiene el espectro de

infrarrojo. Por convención en el eje de la x se grafica el número de onda (cm-1) y en el eje y el % de transmitancia (%T; Smith, 2011; Dutta, 2017).

1.5.6.6. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (NMR)

NMR es la técnica instrumental que ayuda a estudiar las estructuras moleculares de los compuestos utilizando campos magnéticos y frecuencias electromagnéticas generadas por imanes superconductores. Los datos espectrales de NMR proporcionan una gran cantidad de información estructural de un compuesto de interés. Esta es capaz de discernir diferencias estructurales entre compuestos de pesos moleculares iguales o incluso misma fórmula molecular (Hore, 2015).

La muestra es introducida dentro del tubo de NMR y se posiciona en la sonda de NMR. Entonces la muestra es localizada en la posición del campo más fuerte y la homogeneidad más alta. La NMR consiste en bobinas que son usadas para excitar la muestra y registra las respuestas de señal en radiofrecuencia. La base de la NMR es que los núcleos se comportan como imanes microscópicos en el campo magnético. Estos giran alrededor del campo magnético principal, movimiento llamado precesión. La frecuencia de la precesión es proporcional a la fuerza del campo magnético. Los núcleos excitados pueden ser medidos por una corriente eléctrica que es inducida en la bobina y resulta un espectro de frecuencia con una señal para cada núcleo diferente (Bovey, *et al* 1988).

C-NMR es para identificar los tipos de carbono que tiene la estructura del compuesto y H-NMR se utiliza para averiguar los hidrógenos que están presentes en el compuesto y como están conectados. Pese a que es una técnica que provee información estructural, esta carece de sensibilidad y hay pocas bases de datos que provean datos de NMR (Hatzakis, 2018).

1.5.7. Técnicas hifenadas

Las técnicas hifenadas o técnicas híbridas es la combinación o acoplamiento de diferentes técnicas analíticas. Principalmente cuando las técnicas de separación son fusionadas con técnicas espectroscópicas. Tales técnicas tienen relevante importancia en la desreplificación porque muestran un mejor análisis de los componentes de las muestras, como son especificidad, exactitud y precisión (Nikolić, 2017).

La desreplicación es un proceso clave para la identificación de compuestos bioactivos responsables de la actividad de un extracto prioritario con el fin de concluir con éxito su extracción de manera eficiente. En general, una desreplicación involucra una separación por método cromatográfico, identificación por un método espectroscópico o instrumental y bioensayos para la evaluación de su actividad biológica (Hubert, *et al* 2017).

Las técnicas hífenadas más comunes es el acoplamiento de GC con FID o MS, la cual tiene uso limitado, prioritariamente compuestos volátiles y no polares (Beale, *et al* 2018) y la combinación de detectores UV/Vis, DAD o MS a la separación por HPLC (Cong-Cong, *et al* 2017). Adicionalmente, se distingue que la técnica hífenada de HPLC-DAD-MS-NMR permite la separación y determinación estructural de fitoquímicos a partir de un extracto vegetal (Nagajyothi, *et al* 2017; Drabik, *et al* 2019).

1.5.8. Estrategias para la búsqueda de compuestos

Se conocen tres estrategias comunes para el hallazgo de nuevos compuestos con propiedades bioactivas. La primera es la técnica tradicional, en donde el proceso de descubrimiento de los bioactivos carece de desreplicación, ya que la determinación de la actividad biológica se realiza hasta el aislamiento final de los compuestos y no hay una optimización de recursos ni del proceso (Mandal, *et al* 2015d).

La segunda estrategia, es el aislamiento de bioactivos guiado por bioensayos, la cual utiliza procedimientos más racionales y objetivos, y las actividades biológicas son evaluadas en todos los extractos (fracciones) generados para encontrar compuestos con actividad deseable (Hits). Los extractos con Hits pueden pasar a ser post-fraccionados con el uso de diferentes técnicas de separación. Por cada extracto que contenga los Hits, se recomienda resguardar la mitad y la otra mitad fraccionar en 12 partes. A este proceso también se le denomina biblioteca de extractos (Mandal, *et al* 2015d).

Entre las ventajas de un fraccionamiento de extractos están que las mezclas se vuelven más simples, hay excelente separación para moléculas muy polares y no polares, y que las probabilidades de descubrir un nuevo bioactivo aumentan. La desventaja es que, así como se aumenta el número de muestras, también aumenta el costo (Atanasov, *et al* 2021).

No obstante, el efecto de competencia y sinergia de los constituyentes presentes en los extractos y fracciones suelen dar falsos positivos y negativos, lo que pone en peligro la misión de descubrir los verdaderos compuestos responsables. Si se descubre un compuesto previamente identificado, se puede conseguir purificado y entonces se realizan los bioensayos.

La desreplicación basada en la estructura es la tercera estrategia. Está más enfocado utilizar un alto grado de técnicas analíticas y de elucidación. Además, el trabajo metodológico se basa del aislamiento guiado por bioensayos, ya que generalmente, se generan postextracciones del extracto primario seguido de la medición de sus bioactividades. Subsecuentemente se prosigue al aislamiento y caracterización de la estructura mediante técnicas hifenadas (Li & Lou, 2018b).

1.5.9. Estrategias de identificación

Para una identificación de compuestos volátiles por GC se recomienda que los índices de retención sean idénticos (± 0.2) usando al menos tres fases estacionarias con diferentes selectividades o si se utiliza una sola columna la dependencia del índice de retención sobre la temperatura tiene que ser idéntica a no menos de cinco temperaturas diferentes. Además de acoplar una identificación por MS o FID (Mandal, *et al* 2015b).

La identificación puede realizarse sin compuestos referencia si la información de la literatura es confiable. Cuando se usa una sola fase estacionaria, para incrementar la certeza, se recomienda utilizar un detector de ionización de flama (FID) con dos identificaciones por MS, y cuando son dos fases estacionarias se sugiere usar FID y MS (Aparicio-Ruiz, *et al* 2018).

Para una identificación de compuestos no volátiles hay tres posibles vías de identificación. La primera es adecuada para compuestos conocidos que tienen muestras referencia, la segunda es acoplada para compuestos conocidos pero que no tienen muestras referencia y la tercera vía está diseñada para cuando los compuestos son desconocidos (Mandal, *et al* 2015b).

Para la primera vía es posible utilizar TLC, donde el extracto y las sustancias referencias se aplican en la misma placa bajo un solo sistema de eluyente y los factores de restricción homólogo (hRf) son calculados a partir de densitometría. Si los Rf son idénticos o al

menos con una diferencia de ± 3 , con la sustancia referencia pueden ser considerados idénticos.

Para validar la técnica se recomienda el uso de tres fases móviles de diferente selectividad. Además, para una satisfactoria identificación de compuestos conocidos se debe realizar una identificación *in situ* espectroscópica con UV-Vis. Cada mínimo o máximo del espectro de UV-Vis debe ser idéntico y la relación mínima y máxima de absorbancia local también debe ser idéntica. Otra opción de separación es usar HPLC en fase reversa (RP), generalmente se recomiendan tres composiciones de fase móvil (Mitema, *et al* 2020).

La ventaja de utilizar en fase normal TLC es que permite combinar un gran número de solventes para las separaciones, mientras que la desventaja es el poder de separación y su poca sensibilidad cuando la concentración de un compuesto de interés no es suficiente para detectarlo. Por el contrario, la técnica de HPLC-RP tiene mayor poder de separación, pero los solventes que se pueden utilizar son pocos. Por lo tanto, en la práctica es recomendable utilizar la combinación de ambos métodos y por supuesto la identificación con UV-Vis (Potterat, *et al* 2007).

En la segunda vía, cuando los compuestos son conocidos, pero no se cuenta con las sustancias estándar, es muy frecuente que se recurra a técnicas combinadas, como HPLC acoplada a detector de matriz de diodo (DAD) y espectrometría de masas (MS) o HPLC–DAD–MS–MS para una identificación y elucidación estructural. En adición, se ha intentado acoplar NMR que ofrece mayor complementación. Muchos casos, utilizan dos técnicas de separación y dos técnicas de identificación (McLafferty, 1981; Palafox-Carlos, *et al* 2012).

En la tercera vía, para la identificación de compuestos con estructuras desconocidas, el trabajo analítico puede resultar complejo. Usualmente, se basa en los procedimientos guiados por la bioactividad. Para el monitoreo de extractos crudos o purificados son necesarias las técnicas híbridas a HPLC que permitan una huella precisa de los metabolitos desconocidos. HPLC-DAD-MS-NMR es por excelencia la técnica híbrida que permite una identificación estructural eficiente (Marco-Urrea, *et al* 2010; Seger, *et al* 2013).

1.5.10. Etapas de la elucidación estructural

La elucidación estructural avanza a través de cuatro etapas. En la primera etapa se reconocen las principales clases de compuestos naturales que pertenecen. En esta etapa se identifican las constantes físicas, la fórmula general y los grupos funcionales. La segunda etapa consiste en la simplificación estructural para identificar el esqueleto de carbono subyacente, en la cual hay una remoción selectiva de grupos funcionales y diseccionar el esqueleto de carbono en sus partes identificables (Kwan & Huang, 2008).

La tercera etapa se refiere a la determinación de la posición y la estereoquímica relativa de los grupos funcionales. Además, también aquí se revelan las interacciones entre dichos grupos funcionales. Y la cuarta o última etapa involucra el establecimiento de la absoluta estereoquímica de la molécula y si hay formas enantioméricas (Kind & Fiehn, 2010).

Durante el proceso de las cuatro etapas de elucidación estructural se van recopilando la identidad que caracteriza a un compuesto. En esencia, se clasifican en cuatro criterios, los criterios físicos (puntos de fusión o ebullición, rotación óptica, índice de refracción), criterios analíticos (composición elemental, espectros de MS, masa molecular relativa), criterios cromatográficos (R_f o hR_f en TLC, o Tr o pico en GC o HPLC con diversos sistemas) y criterios espectroscópicos (espectros de NMR, de absorción de IR y UV-Vis; Strife, *et al* 1997).

CAPÍTULO II

2. Antecedentes

2.1. Métodos de control para *Anastrepha ludens*

Anastrepha ludens es controlada con la Campaña Nacional contra Moscas de la Fruta (CNCMF) puesta en marcha en 1992 con el objetivo de suprimir sus poblaciones y conservar zonas libres y zonas de baja prevalencia del insecto. La CNCMF está regida por los principios de manejo integrado de plagas, bajo la operación de la SENASICA (2020). Las principales acciones de la CNCMF son el trapeo, muestreo de frutos, uso de control biológico, mecánico, químico y autocida.

Las actividades de trapeo permiten determinar la presencia de especímenes adultos y obtener características de sus poblaciones, así como saber qué especies están presentes o ausentes en campo para entonces delimitar zonas infestadas. Este método proporciona las bases para poder utilizar de manera inteligente las otras estrategias de control. Se utilizan trampas Multilure o McPhail que contienen un cebo líquido formado de proteína hidrolizada con bórax. La ejecución del trapeo se realiza en períodos establecidos y las trampas se revisan cada 7 días (SENASICA 2017a).

El programa de trapeo siempre va acompañado de las actividades de muestreo de frutos. Realizar un muestreo de frutos complementa el trabajo del trapeo, ya que además de detectar larvas de la mosca en la fruta, permite conocer acerca de sus hábitos alimenticios y datos sobre la fenología del hospedante. Dentro del muestreo se deben considerar todos los frutos que hay en una zona de trabajo, se realiza todo el año y bajo cualquier condición ecológica. Los frutos son llevados al laboratorio donde se les realizan disecciones y son observados bajo microscopio (SENASICA 2017a).

El control mecánico es un método sencillo y de bajo costo, que al realizarse de manera correcta puede reducir hasta el 60% de las poblaciones de moscas. Su principal objetivo es eliminar los sustratos de supervivencia de larvas y de huevos de moscas de la fruta. Se recolectan frutos infectados para proceder a su destrucción. Los frutos son introducidos al suelo a profundidades mayores a 50 cm, se agrega una capa de cal y se aplica la capa de tierra (SENASICA, 2017b).

El control biológico y autocida (TIE) surge en 1993 cuando el SENASICA establece en Metapa de Domínguez, Chiapas una planta de producción de parasitoides y moscas estériles, con la finalidad de implementar métodos más selectivos y ecológicos para la erradicación de la plaga (SENASICA, 2017d).

El control biológico se enfoca en un Control Biológico por Aumento (CBA), el cual significa la crianza de un gran número de enemigos naturales y su posterior liberación en periodos críticos. En particular, se hacen liberaciones masivas de la avispa parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata*, la cual ha demostrado su alta eficiencia en la reducción de poblaciones silvestres de *A. ludens*. Para la aplicación exitosa de CBA los parasitoides deben ser individuos altamente competitivos a costos razonables y que los materiales de empaque y liberación garanticen su integridad y desempeño óptimo (SENASICA, 2017c).

Sin embargo, *D. longicaudata* es un parasitoide exótico de origen asiático que fue introducido sin previos estudios de impacto ecológico. Se ha afirmado que es un parasitoide altamente competitivo en comparación con parasitoides nativos de México. Tiene las mejores tasas de parasitismo y ejerce una supresión en las tasas de parasitismo de avispas nativas. Por lo que se sugiere que su aumentativa liberación podría generar la eliminación de parasitoides nativos (Paranhos, *et al* 2013). Se demostró que *Utetes anastrephae* fue la menos afectado por la presencia competitiva de *D. longicaudata*, por lo que se recomienda que se complemente al trabajo de crianza y liberación de parasitoides para el control biológico en México (Murillo, *et al* 2019).

El control autocida o TIE consiste en la crianza, esterilización y liberación masiva de machos de *A. ludens*. Estos machos estériles entran en competencia con los machos silvestres por aparearse con las hembras llegando a producir copulas estériles. Si los apareamientos estériles superan a los fértiles la población de moscas fértiles disminuirá generación tras generación (SENASICA, 2017d).

Por último, la CNCMF hace uso del control químico, cuya finalidad es la supresión de la plaga en estado adulto. Las actividades de este método consisten en la aplicación de cebos por vía aérea y vía terrestre. Los cebos consisten en una mezcla acuosa de proteína hidrolizada, como atrayente e insecticida. Los insecticidas empleados son el malatión y el spinosad. En las aspersiones terrestres y áreas alejados de asentamientos humanos se podrá usar malatión y para aspersiones aéreas urbanas y de asentamientos se podrá utilizar

spinosad. Además, en esta estrategia se abarca el uso de estaciones de cebo con el objetivo de atraer y matar a las moscas de la fruta. Se utilizan contenedores a los cuales se les deposita agua, proteína hidrolizada y malatión (SENASICA, 2017e).

2.1.1. Malatión

El malatión [dietil-2-dimetoxifosfinotioilsulfanilbutanodioato] es un insecticida organofosforado no sistémico con actividad por contacto, ingestión e inhalación. Efectivo contra una amplia gama de insectos (incluida entomofauna benéfica) que penetra de forma inmediata por el exoesqueleto e internamente actúa sobre el sistema nervioso central (SNC) causando la inhibición de la acetilcolinesterasa. Esto provoca parálisis de los insectos y su posterior colapso (SIFATEC, 2021; ANAJALSA, 2021; Hellmich, 1992).

Los humanos se exponen al malatión cuando realizan su aplicación a los cultivos y por medio del consumo de alimento contaminado. Según Jensen & Watling (2010) el malatión posee baja toxicidad sobre mamíferos debido a la presencia de enzimas detoxificantes (carboxiesterasas y glutatión S-transferasas), que rápidamente lo metabolizan. Aunque, se demostró en ratas Wistar que la toxicidad del malatión incrementa hasta 80 veces por la presencia de derivados (malaoxón e isomalatión) e impurezas (trimetil fosforotioatos) ocasionados durante la fabricación y almacenamiento (Aldridge, *et al* 1979). Badr (2020) en su revisión recopila que el malatión en mamíferos afecta el SNC causando alteraciones sensoriales y neuroconductuales irreversibles; daña el DNA, facilita la apoptosis celular y afecta la funcionalidad del hígado, riñones, testículos, ovarios, páncreas y pulmones.

Estudios indican que el malatión es tóxico en animales acuáticos y en aves. Se examinó en un trabajo la toxicidad del malatión en el pez *Colisa fasciatus* de aguas dulces y los resultados mostraron que posee alta toxicidad a bajas concentraciones (LD90 4.64 mg/L en 2 días) y conforme estas aumentan se incrementa la letalidad (Singh, 2004). La exposición de malatión por ingestión a codornices (*Cotrunix Japonica*) tuvo efectos letales a las 24 h (163.6 mg/kg), mostrándose aberraciones cromosómicas en glóbulos rojos inmaduros de la médula ósea (Khosrow, *et al* 2019).

Además, el uso indiscriminado de malatión ha generado la contaminación de diferentes cuerpos de agua y se sostiene que tiene resistencia a la biodegradación. Un estudio realizado en superficies de agua del área de Ciénega en Jalisco demostró la persistencia de malatión y que sus concentraciones (311.76–863.49 ppb) excedían los límites permitidos por la Environmental Protection Agency (EPA; Silva-Madera, 2021). Por otro lado, un experimento determinó que se puede lograr una degradación casi completa del malatión utilizando persulfato activado con UV y Fe^{3+} a pH 3 (Vasseghian, *et al* 2020).

Ante las evidencias que citan al malatión, la EPA de EUA impuso reglas estrictas para su uso (ATSDR, 2016), mientras que el Ministerio de Salud de Argentina prohibió su importación, comercialización y uso para el control de enfermedades humanas (ANMAT, 2018). Sin embargo, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) informó en 2015 que la Organización Mundial de la Salud (OMS) no apoya la prohibición de malatión y que su Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) lo clasificó como “probablemente cancerígeno para el ser humano” (OPS, 2015).

En México, el malatión es indicado para su uso en el Catálogo Oficial de Plaguicidas 2004 de la CICOPALAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas) y cuenta con registro y autorización ante la COFEPRIS (Comisión Federal para la Prevención de Riesgos Sanitarios), SADR y SEMARNAT (COFEPRIS, 2020). En adición aparece como producto recomendado por la CENAPRECE (2018; Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades) para el combate de insectos vectores de enfermedades.

2.1.2. Bioinsecticidas basados en extractos botánicos

Una forma alternativa al uso de malatión en el control químico de *A. ludens* son los insecticidas botánicos y compuestos de origen natural. Las plantas producen una gran variedad de compuestos químicos, entre ellos metabolitos secundarios que no tienen una función dentro de los procesos fisiológicos primarios pero que son importantes en las relaciones entre plantas, con otros organismos (bacterias, hongos, parásitos, invertebrados y vertebrados) y con el ambiente (Grdiša & Gršić, 2013).

Los insecticidas botánicos ofrecen varias ventajas con respecto a los plaguicidas químicos. Pueden ser tan efectivos contra las plagas como los insecticidas sintéticos o incluso superiores. Poseen riesgos mínimos para muchos organismos, como los mamíferos (incluido el humano) y las aves. Debido a su origen natural, su persistencia en el ambiente es muy baja, son moléculas biodegradables, comúnmente se descomponen por acción de la radiación solar (fotosensibles) o por acción de microorganismos, por lo tanto, tienen bajo impacto sobre los recursos naturales (agua, suelo, aire). Otra característica relevante de los insecticidas botánicos es su modo de acción, son muy inespecíficos a comparación de los plaguicidas químicos que atacan un solo objetivo (Isman, 2006).

Los estudios muestran que la aparición de resistencia en un insecto es más retardada o incluso no se desarrolla cuando se controla con extractos de plantas que con los compuestos activos purificados en virtud de la gran diversidad de fitoquímicos que pueden albergar (Siegwart, 2015). En dos líneas de áfidos de *Myzus persicae* se estudió por 40 generaciones la aparición de resistencia. Una línea fue tratada con el aceite de neem puro y la otra generación con solo el compuesto activo purificado, la azadiractina. Se encontró que la línea tratada con azadiractina desarrollo 9 veces más resistencia que el grupo de áfidos no tratados mientras que la línea tratada con el aceite de neem puro tampoco desarrollo resistencia (Feng & Isman, 1995).

Países como Australia, China y EUA, han aprobado el uso de algunos bioinsecticidas para una agricultura más sostenible, entre los más vendidos actualmente están los extractos de piretrinas (Pyrethrum), extracto de neem, aceites esenciales y extracto de quenapodio. Aunque la producción de insecticidas botánicos es una tarea difícil por tres aspectos: (1) obtener gran cantidad de biomasa de la fuente vegetal, (2) estandarización de los principios activos del extracto y (3) su aprobación regulatoria. Pero a pesar de esto, los beneficios son más seguros y tendrían un gran rol dentro de los agroecosistemas (Isman, 2020).

En México se evalúan cada vez más extractos de especies vegetales con el propósito de aislar compuestos naturales de plantas nativas que tengan actividad insecticida (Celis *et al* 2009; Granados-Echegoyen, 2015; Valdés-Estrada *et al* 2016; Leyva, *et al* 2017) y Boulogne *et al* (2012) señalaron que los tres principales compuestos más reportados en cuanto a actividad contra insectos son los alcaloides, compuestos fenólicos y terpenoides.

El extracto de éter de petróleo de la semilla de *Argemone mexicana* mostró actividad larvicida en el segundo estadio de *A. aegypti* y produjo esterilidad al 100% en los huevos de la primera generación (Sakthivadivel & Thilagavathy, 2003). Mientras que los extractos metanólicos de las semillas causaron 86.6% de mortalidad en el cuarto estadio del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Jemberie, *et al* 2017). Por otro lado, Vásquez-Morales *et al* (2015) demostraron que los extractos etanólicos de sarcotesta de *Magnolia schiedeana* tuvieron una efectividad insecticida del 64% en adultos de *A. ludens*. Del mismo modo, demostraron que los extractos etanólicos de sarcotesta de *M. vovidesii* tuvieron una actividad insecticida sobre adultos de *A. obliqua* del 92% (Vásquez-Morales *et al*, In press).

Anteriormente, Flores-Estévez *et al* (2013) reportaron que el extracto etanólico de sarcotesta de *M. dealbata* (actualmente *M. vovidesii*) tuvo actividad insecticida contra adultos de *A. ludens* en un 96% y que los extractos etanólicos de la semilla de *A. ochroleuca* tuvieron una efectividad insecticida del 88% en *A. ludens* (datos no publicados).

En este trabajo de revisión de literatura se plantea la siguiente pregunta: ¿Qué compuestos aislados de *Magnolia* spp y *Argemone* spp pueden estar implicados en la actividad insecticida contra *A. ludens*? Para responder a esta pregunta, se realizó una investigación bibliográfica de compuestos aislados de semillas y de sarcotesta de especies de *Argemone* y *Magnolia*, respectivamente. Posteriormente se realizó una selección de compuestos candidatos para su evaluación experimental en la mosca mexicana de la fruta *A. ludens*. Asimismo, se investigaron las rutas de biosíntesis y posibles modos de acción. Finalmente se propuso un protocolo de investigación para la evaluación de compuestos candidatos en la plaga y análisis de los extractos botánicos.

2.2. Justificación

La mosca mexicana de la fruta *A. ludens* representa una plaga de alta importancia económica dentro del sector frutícola de México y debido a que se sigue autorizando el uso de malatión para su control, un insecticida de amplio espectro y que genera efectos secundarios en organismos no objetivos, es una necesidad prioritaria buscar alternativas más seguras y sostenibles para su manejo integrado.

Por ello, la exploración de la vegetación nativa de México, como especies del género *Argemone* y *Magnolia*, brinda oportunidades para la bioprospección de bioinsecticidas basados en extractos botánicos y/o compuestos naturales que pueden controlar a la mosca mexicana de la fruta y reemplazar el uso de insecticidas sintéticos.

En el caso particular de *M. vovidesii*, al aprovechar su sarcotesta como fuente de bioactivos, permitirá obtener semillas libres para la propagación de la especie. Y por el lado de *A. ochroleuca*, su alta producción de semillas permitirá la elaboración de bioinsecticida y también resguardar suficiente para su cultivo.

Por lo tanto, un estudio bibliográfico a profundidad acerca de los compuestos aislados de semillas de *Argemone* spp y de sarcotesta de *Magnolia* spp, contribuirá a proponer aquellos con mayor potencial insecticida en la mosca mexicana de la fruta *A. ludens*. Así también permitirá un acercamiento hacia los metabolitos que puede albergar una semilla de *Argemone* y una sarcotesta de *Magnolia* para un futuro estudio de fitoquímicos.

2.3. Hipótesis

Si se ha reportado una amplia diversidad de compuestos aislados de las semillas de *Argemone* y de frutos y semillas de *Magnolia*. Entonces,

H₁ los principales compuestos implicados en la actividad insecticida pertenecen a grupos del metabolismo secundario, como los terpenos, fenoles y alcaloides.

2.4. Objetivos

2.4.1. Objetivo general

Investigar bibliográficamente compuestos químicos con potencial insecticida de *Argemone* spp y *Magnolia* spp contra *Anastrepha ludens*.

2.4.2. Objetivos específicos

- i. Identificar los compuestos químicos aislados de las semillas del género *Argemone* y del fruto, semillas y sarcotesta del género *Magnolia*.
- ii. Investigar el rol biológico de los principales grupos de compuestos químicos determinados.
- iii. Seleccionar aquellos grupos de compuestos químicos de cada género, *Argemone* y *Magnolia*, que puedan actuar como moléculas insecticidas contra *A. ludens*.
- iv. Enlistar compuestos químicos para su evaluación insecticida en *A. ludens* y describir sus rutas de biosíntesis y modos de acción en insectos.
- v. Proponer un protocolo experimental para el análisis de los extractos botánicos y la evaluación de los compuestos candidatos contra *A. ludens*.

2.5. Biología de especies botánicas

2.5.1. *Argemone ochroleuca*

El género *Argemone* L. (Papaveraceae) es ampliamente distribuido dentro de zonas secas y cálidas del continente americano, centrándose desde el sureste y suroeste de Estados Unidos, seguido por todo el territorio de México y hasta Centroamérica. En Sudamérica ocurre principalmente por la cordillera Central, Occidental y Oriental, seguido por la costa de Venezuela hasta la costa de Brasil y finalmente atravesando por el norte de Argentina y Chile, y sur de Paraguay. El género comprende especies herbáceas perenes y anuales, y algunas arbustivas con hojas mayoritariamente incisas y de características morfológicas bien definidas (Schwarzbach & Kadereit, 1999).

El género *Argemone* tiene flores actinomorfas con tres a cuatro sépalos, caducos y corniculados; una doble corola de tres pétalos, desde 20 a 300 estambres, de filamentos filiformes y anteras lineares. Un gineceo paracarpio conformado de tres a siete carpelos, con estilo corto o nulo y estigma lobulado. Frutos capsulares, coriáceos, de tres a seis válvulas, con dehiscencia apical. Semillas numerosas, oscuras, pequeñas y escrobiculadas (Schwarzbach & Kadereit, 1999; Sorarú, 1976).

Son plantas erectas, ramosas, glaucas o verdes y cuando se le hace una herida libera un látex lechoso-amarillo. El follaje está dispuesto en roseta, caulinares, subamplexicaule, sin estípulas, alternas, sinuado-louado, con bordes irregularmente dentado, nervios blancos, aguijones retrorsos en el envés y en general todas las partes vegetativas tienen espinas a excepto de la raíz y los pétalos (Ownbey, 1958; Sorarú, 1976).

Actualmente, en la Base de Datos Tropicos.org Missouri Botanical Garden (2021) se tienen registradas 55 especies de *Argemone*. Una de estas es *A. ochroleuca* Sweet conocida vulgarmente como “chicalote”, “cardo santo” o “amapola amarilla”. Fue descrita por Robert Sweet en 1828. Hierba que alcanza hasta 1.2 metros de altura, tallos y follaje color azul-blancuecinos, espinosos, las hojas tienen divisiones dentadas y en la punta terminan con una espina. Las flores son de color crema a amarillo claro, solitarias y grandes, con aspecto de papel. El fruto cuando madura se vuelve marrón para la liberación de semillas, que miden 1,5 mm de color marrón-oscuro (Enciclovida, 2021; Figura 2.1).



Figura 2.1. *Argemone ochroleuca* Sweet, 1828 (Chicalote). a) Anatomía aérea de la planta, tallo, follaje y flores. b) Flor actinomorfa. c) Fruto en dehiscencia con semillas maduras. Tomado de Macilla (2018).

A. ochroleuca se ha naturalizado en regiones tropicales y subtropicales. Habita climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados, desde 0 a 2600 m snm. Crece en parcelas en descanso, campos de cultivo abandonados o en zonas de vegetación perturbada de bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo, bosque mesófilo de montaña y bosques de encino y pino. Se encuentra vegetativa de septiembre a abril, florece durante diciembre a febrero y fructifica desde enero hasta julio (CONABIO, 2021).

A. ochroleuca es una especie de América Central y su rango nativo es México, sin embargo, ha sido introducida en diversas partes del mundo como Australia, África, Asia

tropical, Nueva Zelanda e islas oceánicas como las Islas Canarias. Por esto, en el Compendio de Especies Invasoras del Centro de Biociencia Agrícola Internacional (CABI, 2019) la ha catalogado como especie invasora. En Sudáfrica se ha indagado acerca del control sus poblaciones con el uso de escarabajos que se alimentan de flores y frutos la cual evitaría el desarrollo y la propagación de semillas (Van der Westhuizen & Mpedi, 2011).

Todas las partes vegetativas del chicalote tienen compuestos bioactivos, por lo que es útil medicinalmente. Es una planta con propiedades narcóticas. Las hojas son usadas para infusiones como tranquilizante suave, sedante y analgésico. El látex se utiliza externamente contra verrugas y cataratas. La infusión de la flor se ha utilizado para remediar la tos, y el emplasto de las semillas con leche curan la sarna (Sharma, *et al* 2012; Razo, 2019).

2.5.2. *Magnolia vovidesii*

Magnolia es el género más grande de la familia Magnoliaceae con un total de 312 especies según la Lista Roja de Magnoliaceae (Rivers, *et al* 2016). De este total 147 se encuentran amenazadas, 12 en peligro de extinción, 95 con deficiencia de datos, 58 en menor preocupación y 10 no evaluadas. Es considerada como una de las familias vivientes más primitivas de las plantas con flores. Los registros fósiles datan del periodo Cretácico (135-100 millones de años), cuando aún los dinosaurios habitaban la tierra (Nelson, 2008).

Una gran parte de las especies (~80%) se distribuyen en climas templados y tropicales del sureste de Asia desde el Himalaya hacia el este de Japón y hacia el suroeste a través del Archipiélago Malayo a Nueva Guinea y Nueva Bretaña. Un pequeño porcentaje (~20%) se distribuye en América, a partir del suroeste de Norteamérica a través de Centroamérica y Sudamérica tropical (Sarker & Maruyama, 2002).

Las características morfológicas de las *Magnolia* spp son muy distinguibles de cualquier otro grupo taxonómico. Son especies arbóreas y algunas arbustivas de hojas caducas o perennifolias, alternadas, pecioladas, simples y con estipulas largas. Las flores son bisexuales y muy raras unisexuales, grandes y vistosas, pedunculadas, solitarias hasta el final de las ramas o en axilas de las hojas, el perianto se compone de dos o más espirales de tépalos libres parecidos a los sépalos y a la vez petaloides, estambres numerosos,

arreglados en forma espiral, filamentosos y anteras con dos lóculos. Tiene varios carpelos acomodados en espiral, libres y parcialmente fusionados y cada carpelo tiene dos o más óvulos colocados ventralmente. Los frutos se componen de carpelos unidos o separados, los cuales son longitudinalmente dehiscentes, circumsésiles o indehiscentes. Las semillas son largas envueltas en un arilo o sarcotesta libre del endocarpio (Sarker & Maruyama, 2002).

Las plantas de Magnoliaceae son especializadas en términos de ecología de polinización. Las flores frecuentemente poseen un fuerte olor y los mayores agentes de polinización son los escarabajos. Las flores pueden actuar como trampas de escarabajos y mantenerlos en el interior cautivos durante la posición cerrada. Estos se quedan toda una noche dentro y si se capturaron en la fase femenina, al siguiente día dejarán la flor en la fase macho, cuando ocurre el desprendimiento de polen, entonces el escarabajo acarreará el polen y al visitar otra flor se darán las condiciones para una exitosa polinización cruzada. Aunque, también se ha visto que pueden ser polinizadas por himenópteros (abejas) y dípteros (moscas; Thien, *et al* 1996; Gottsberger, *et al* 2012).

En México se han reportado 30 especies de *Magnolia* y una de ellas es *M. vovidesii*. *M. vovidesii* fue separada del complejo *M. dealbata* (Zucc) en 2013 tras una caracterización morfológica exhaustiva de la especie (Vázquez-García, *et al* 2013; Figura 2.2.). Es un gran árbol nativo del estado de Veracruz con un rango de área muy restringido. Ocurre en tres lugares que suman un área de 85 km². Estas especies están amenazadas por la fragmentación severa de su hábitat, así como su continuo decline en la extensión y calidad por el incremento en el pastoreo de suelo, la extracción de madera, plantaciones de café y asentamientos humanos. La Lista Roja de Especies de Magnoliaceae la cataloga en peligro de extinción. Además, muy poco se conoce de esta especie y es necesaria una mayor investigación (Rivers, *et al* 2016).

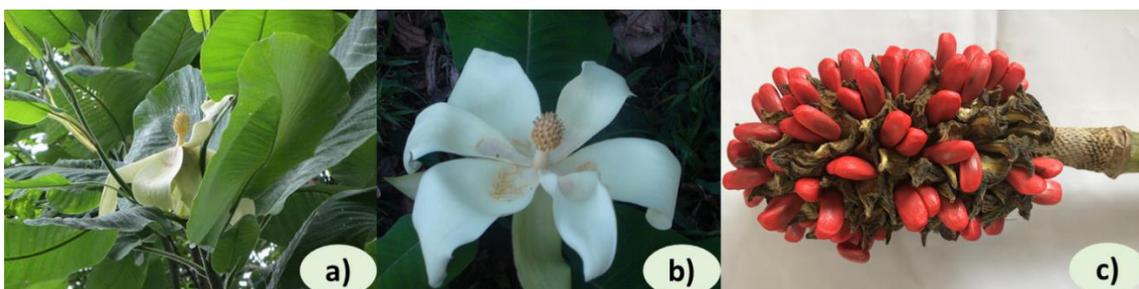


Figura 2.2. *Magnolia vovidesii* Vásquez-García, 2013. a) Follaje de hojas grandes. b) Flor con distinguidas manchas púrpuras. c) Polifolículo dehiscente con semillas expuestas. Créditos fotográficos Suria Vásquez.

El árbol de *M. vovidesii* puede medir de 15-25 m, el diámetro a la altura del pecho (dbh) de 0.09-0.05 m, caducifolio, densamente pubescente blanquecino, corteza gris oscura y blanco en la corteza más interna. Hojas delgadas, gigantes (de 24-70 cm * 15-30 cm), obovatas, oblongas en el ápice, de auriculada a cordata en la base, el margen tipo andulado, verdes y glabras por encima, glauco-blanqueado, cera epicuticular en el envés, peciolo de 5.5 a 8 cm y estípulas de 19 * 9 cm unidas al peciolo (Vásquez-García, *et al* 2013).

Las flores de *M. vovidesii* son blanco crema, el capullo se envuelve en 2-3 brácteas, con aroma dulce, pétalos glabros, posee manchas púrpuras en la base del verticilo más interno y en el intermedio de los pétalos. Estas manchas son gruesas y de color púrpura clara, únicamente al abrir la flor, posteriormente se oxidan a una coloración café. Tiene de 70-78 carpelos, un gran número de estambres (de 420 a 430) amarillo pálido y estilos cilíndricos, punta encabezada y rodeada en el ápice. Los polifolículos son ovoides-oblongoides a cónicos, de 60 a 78 folículos, color dorado amarillo en las paredes intercarpelares. Las semillas tienen una sarcotesta naranja, esclerotesta marrón e integumento interno amarillento (Vásquez-García, *et al* 2013).

Las hojas de *M. vovidesii* comienzan a crecer en marzo y caen por noviembre, comienza a dar flores cuando cumple de 7 a 10 años, a partir del abril tardío hasta el mayo temprano, las flores pueden durar hasta cinco días y los frutos maduran hasta septiembre-octubre (Gutiérrez Carvajal, 1993). Se ha investigado que entre los usos que las comunidades cercanas le dan a *M. vovidesii* es como árbol ornamental, para sombra, para obtener leña y como planta medicinal (Ixtacua-Martínez, *et al* 2018).

CAPÍTULO III

3. Materiales y metodología

3.1. Búsqueda bibliográfica de compuestos aislados de *Argemone* spp y *Magnolia* spp.

Se realizó una búsqueda sistemática y ordenada de compuestos químicos aislados de frutos completos, semillas completas y sarcotesta de especies de *Magnolia* y de las semillas de especies de *Argemone* en las siguientes bases de datos y revistas especializadas: National Center for Biotechnology Information (NCBI), PubMed, PubChem, Google Scholar, Semantic Scholar, Springer Link, Springer Materials, American Chemistry Society, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, BioOne Complete, Nature, Science, ElSevier, Royal Society Chemistry, Wiley Online Library y Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS).

Los criterios de búsqueda básicamente se dividieron por género. Para la búsqueda de compuestos aislados de semillas de *Argemone* se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras claves: Papaveraceae +seed; Papaveraceae +semilla; Papaveraceae +fruto; Papaveraceae +fruit; Papaveraceae +semilla +compuesto; Papaveraceae +seed +compound; Argemone +semilla +compuesto; Argemone +fruto +compuesto; Argemone +seed +compound; Argemone +fruit +compound.

En caso de *Magnolia* las combinaciones utilizadas fueron: Magnoliaceae +fruto +compuesto; Magnoliaceae +semilla +compuesto; Magnoliaceae +sarcotesta; Magnoliaceae +fruit +compound; Magnoliaceae +seed +compound; Magnoliaceae +sarcotesta +compound; Magnoliaceae +aril +compound; Magnolia +fruto +compuesto; Magnolia +semilla +compuesto; Magnolia +sarcotesta +compuesto; Magnolia +fruit +compound; Magnolia +seed +compound; Magnolia +aril +compound.

3.2. Clasificación de los compuestos encontrados

Para la clasificación de los compuestos encontrados en sus principales grupos se empleó la base de datos de PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Para la identificación de clases y subclases dentro de los grupos identificados se hizo una revisión bibliográfica

utilizando las siguientes palabras clave: “terpenes”, “terpenoids”, “phenols”, “phenolic”, “compound”, “alkaloids”, “lipids”, “organic compound” “functional group”.

3.3. Investigación del rol biológico de los principales grupos de compuestos encontrados

Se realizó una revisión bibliográfica (Google Scholar, NCBI, Springer Link, Semantic Scholar) de las principales funciones biológicas de los grupos de moléculas identificados, desde un nivel fisiológico y nivel ecológico. Los criterios de búsqueda se dividieron de acuerdo con los principales grupos: terpenos, fenoles, alcaloides y lípidos.

La combinación de palabras claves utilizadas fue colocando la palabra del grupo o clase, es decir, terpenes, terpenoids, monoterpenes, sesquiterpenes, phenols, phenolic compound, free phenols, phenolic acid, lignans, neolignans, flavonoids, flavones, flavanones, alkaloid, isoquinoline, benzophenanthridine, protopines, protoberberines, aporphines, seguido de las palabras +function +physiology; +function +ecology; +function +physiological; +function +ecological; +role +physiology; +role +physiological; +role +ecology; +role +ecological.

En el caso especial de lípidos se utilizaron las palabras lipid y fatty acid, seguido de +sarcotesta, +semilla, seguido de +role o +function, seguido de +physiology o +physiological o +ecology o +ecological.

3.4. Selección de los grupos de compuestos químicos

Con base en la información obtenida de la investigación de los principales roles biológicos de los grupos de compuestos, se seleccionaron aquellos que cumplen un papel defensivo contra insectos.

3.5. Selección de los compuestos candidatos

La selección de compuestos candidatos se basó en cuatro criterios.

El primer criterio (1) considera aquellos compuestos que estén presentes prioritariamente en la estructura vegetativa objetivo. Se seleccionaron los compuestos que fueron aislados de la sarcotesta de *Magnolia* y de las semillas de *Argemone*. En el caso de *Magnolia* también se tomó en cuenta los compuestos aislados de semillas.

El segundo criterio (2) considera la frecuencia de aparición de los compuestos, que se refiere a las veces que aparece o se repite un compuesto entre las especies de cada género. Se seleccionaron aquellos compuestos que estuvieron presentes en dos o más especies.

El tercer criterio (3) valora el potencial insecticida de los compuestos. Para ello, primero se investigó cuáles compuestos están evaluados en al menos una plaga artrópoda, principalmente en la clase Insecta. Posteriormente se tomaron en cuenta los compuestos evaluados en ciertos grupos taxonómicos principalmente en estado adulto. Finalmente, pasaron este criterio quienes tengan la mayor efectividad, sea en términos de porcentaje de mortalidad (% a cierta dosis), en concentración letal 50 (DL₅₀) o dosis letal 90 (DL₉₀).

Posteriormente, se priorizó la búsqueda de aquellos compuestos que se evaluaron en especies del orden Diptera, Lepidoptera y Coleoptera en estado adulto, respectivamente. Por lo tanto, se ordenaron los compuestos con respecto a sus efectividades de mayor a menor y se seleccionaron los primeros compuestos evaluados en Diptera, Lepidoptera y Coleoptera en estado adulto.

El último criterio (4) considera el porcentaje de composición. Se obtuvieron los porcentajes de composición de los compuestos que pasaron el tercer criterio, dichos valores se ordenaron de manera descendente y se seleccionan los de mayor composición. Así también, el orden de evaluación es determinado por este último criterio.

3.6. Investigación de rutas metabólicas y modo de acción

Se realizó una revisión bibliográfica acerca de las rutas de biosíntesis de los compuestos candidatos, así como los modos de acción donde ejercen su toxicidad (Google Scholar, NCBI, Springer Link, Semantic Scholar).

Para obtener las rutas metabólicas se consultó la base de datos de la Universidad de London, Queen Mary vinculada con la IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology). Para la revisión bibliográfica se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras claves: biochemistry +terpenes o +terpenoids; biochemistry +phenols; biochemistry +alkaloids; biosynthesis +terpenoids o +terpenes; biosynthesis +phenols; biosynthesis +alkaloids; biosynthesis +isoquinoline. Posteriormente, se utilizó la palabra biosynthesis seguido de la palabra del compuesto candidato acompañado del comando +. Por ejemplo, biosynthesis +copsitine.

El esquema de las estructuras y rutas de síntesis de los compuestos candidatos se realizó utilizando la aplicación de Editor de Estructuras Químicas King Draw (<https://kingdraw-chemical-structure-editor.mx.aptoide.com/app>).

Se predijeron virtualmente los modos de acción de los compuestos candidatos utilizando el Software Molinspiration Cheminformatics (<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>), el cual ensaya con cinco objetivos: Ligando de GPCR, modulador de canales iónicos, inhibidor de cinasa, inhibidor de proteasa e inhibidor enzimático.

Para la revisión en la literatura de los modos de acción se utilizaron las siguientes combinaciones de palabras claves: β -caryophyllene, β -phellandrene, α -terpinene, α -phellandrene, mircene, p-cymene, caryophyllene oxide, (E)-nerolidol, β -pinene, limonene, β -selinene, α -terpineol, seguido de la palabra +mechanism o +target o +“mode of action”.

3.7. Protocolo de investigación

La propuesta del protocolo de investigación se dividió en dos secciones. La primera sección abarcó experimentos de separación y análisis químico, la cual consistió en (1) análisis cualitativo de fitoquímicos, (2) determinación de los compuestos candidatos y (3) análisis fitoquímico de los extractos botánicos; mientras que la segunda sección abarcó experimentos de evaluación por bioensayos de alimentación de los (1) compuestos candidatos, (2) fracciones y particiones; y (3) la reevaluación de los extractos botánicos en *A. ludens* contemplando número de tratamientos y repeticiones, condiciones, tiempo de evaluación, concentraciones y controles.

Para la formación de la estructura del planteamiento de la primera sección se realizó una revisión bibliográfica del fundamento y manejo de las diferentes metodologías y técnicas (CAPITULO I, Sección 1.5), los cuales permitieron el diseño de los diferentes procedimientos. Con respecto a la segunda sección los métodos fueron basados principalmente en el protocolo utilizado por Vásquez-Morales y colaboradores (2015). Se propusieron cinco concentraciones para la evaluación de los compuestos candidatos tomando en cuenta las concentraciones utilizadas en los estudios reportados.

CAPÍTULO IV

4. Resultados

4.1. Revisión de compuestos químicos aislados de especies botánicas

4.1.1. *Argemone* spp

En la búsqueda bibliográfica se encontraron un total de 32 compuestos aislados de las semillas de cuatro especies de *Argemone* spp, *A. platyceras*, *A. grandiflora*, *A. mexicana* y *A. ochroleuca* (Apéndice 4.1).

Los 32 compuestos de *Argemone* se clasificaron en compuestos fenólicos, alcaloides y lípidos (Tabla 4.1). El grupo de los fenoles se identificó la clase de flavonoides y de esta las subclases de flavonas y flavanonas. En el grupo de los alcaloides, se identificó la clase de isoquinolinas, la cual se divide en las subclases, alcaloides de benzofenantridina, de protoberberinas y protopinas. En el grupo de los lípidos todos los compuestos fueron identificados como ácidos grasos (Tabla 4.1). Particularmente, se destaca que seis alcaloides fueron aislados propiamente de la semilla de *A. ochroleuca* (Fletcher, *et al* 1993).

Tabla 4.1. Clasificación de los principales grupos de compuestos químicos aislados de semillas de cuatro especies del género *Argemone*.

Grupo	Subclases	Número de compuestos
Compuestos fenólicos	Flavonas	2
	Flavanonas	2
Alcaloides	Benzofenantridinas	4
	Protoberberinas	3
	Protopinas	2
Lípidos	Ácidos grasos	19
Total		32

4.1.2. *Magnolia* spp

En la búsqueda bibliográfica se encontraron un total de 155 compuestos aislados de semillas completas de *M. grandiflora*, *M. denudata* y *M. officinalis*; de la sarcotesta de *M. kwangsiensis* y del fruto de *M. ovata* (Apéndice 4.2). No se encontraron estudios acerca del aislamiento y detección de fitoquímicos en sarcotesta y/o semilla de especies de *Magnolia* distribuidas en México.

Los 155 compuestos fueron clasificados en terpenos, compuestos fenólicos, ácidos grasos, alcaloides y otros compuestos orgánicos. La subclasificación de los terpenos es en monoterpenos y sesquiterpenos, los compuestos fenólicos se subclasificaron en ácido fenólico, fenilpropanoides, lignanos y neolignanos. Los compuestos lipídicos se identificaron como ácidos grasos. Todos los alcaloides se identificaron como aporfinas y finalmente del resto de compuestos orgánicos se identificaron como alcoholes, cetona, compuestos aromáticos, ésteres y alcanos (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Clasificación de los principales grupos de compuestos químicos aislados de frutos, semillas y sarcotesta de cinco especies del género *Magnolia*.

Grupo	Subclases	Número de compuestos
Terpenos	Monoterpenos	23
	Sesquiterpenos	62
Compuestos fenólicos	Ácidos fenólicos	1
	Fenilpropanos	4
	Lignanos	4
	Neolignanos	11
Alcaloides	Aporfinas	3
Lípidos	Ácidos grasos	24
Otros	Alcanos, aromáticos, esterés, alcoholes, cetonas	23
Total		155

4.2. Funciones biológicas (fisiológica-ecológica) de los grupos de metabolitos secundarios aislados de las especies botánicas.

4.2.1. Terpenos

El origen metabólico de todos los terpenoides está construido por las moléculas bloque de isopreno (C5) isopentenil difosfato (IPP) y dimetilalil difosfato (DMPP). En las plantas

es posible sintetizar IPP y DMPP mediante dos vías: la ruta del mevalonato citosólico derivado del acetil-CoA (MEV) y la ruta del 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP) plastidial derivado del piruvato (Ludwiczuk, 2017).

Los monoterpenos, diterpenos, carotenoides, plastoquinonas y clorofilas derivan principalmente del MEP en los cloroplastos. La figura 4.1 muestra la ruta de biosíntesis del MEP, cuyo metabolito intermediario principal es el 2-C-metil-eritrol-4-fosfato. Los sesquiterpenoides, triterpenoides, brasinosteroides y esteroides provienen de MEV en el citosol (Karunanithi & Zerbe, 2019). En la Figura 4.2 se observa la ruta de síntesis de MEV, cuyo metabolito intermediario principal es el ácido mevalónico citosólico que da origen principalmente a sesquiterpenos.

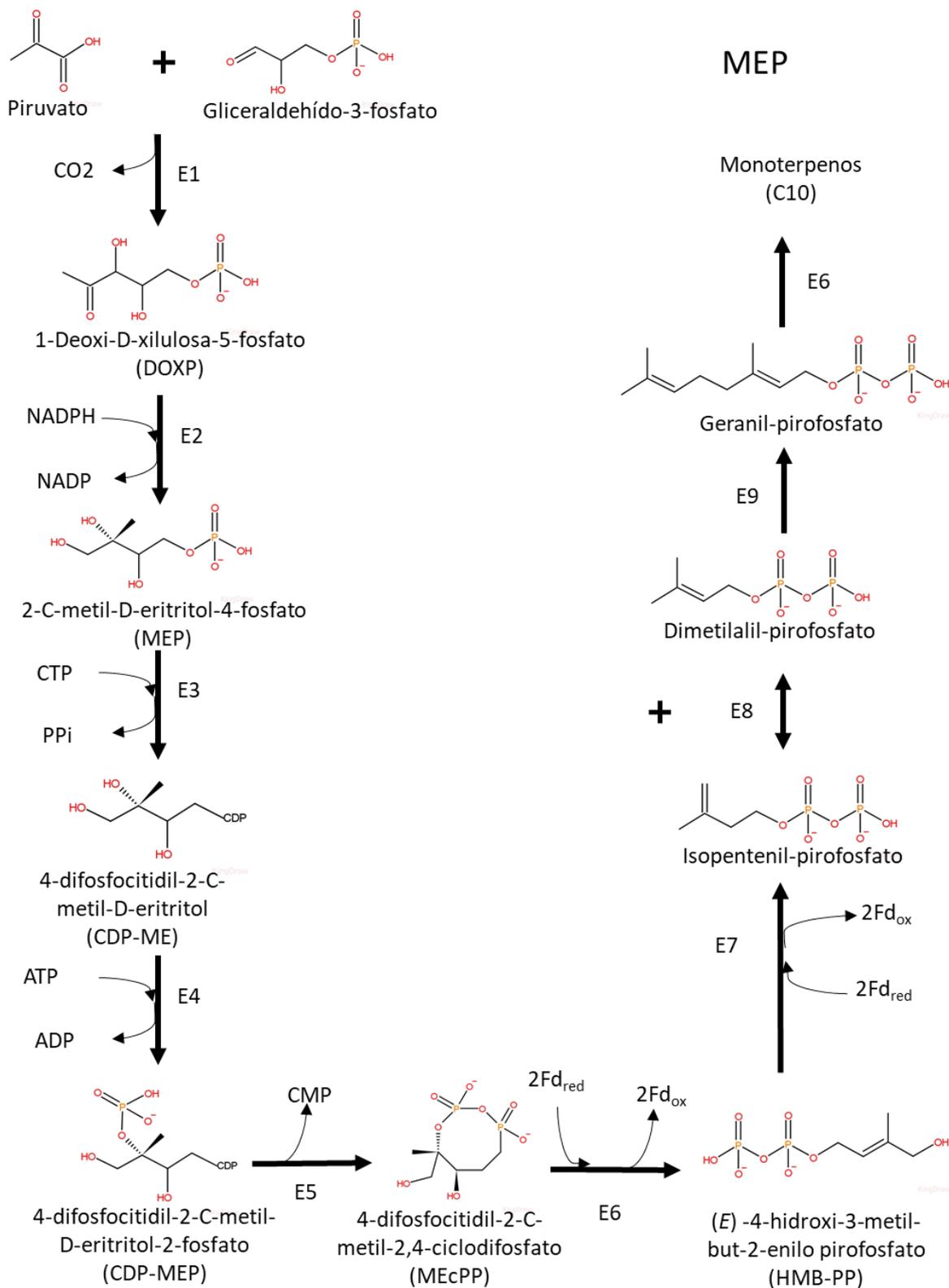


Figura 4.1. Biosíntesis de DMPP e IPP a partir de la ruta del 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP) plastidial derivado del piruvato. E1: DOXP sintasa; E2: DOXP reductasa; E3: MEP citidiltransferasa; E4: 4-difosfocitidil-2-C-metil-D-eritritol cinasa; E5: 2-C-

metil-D-eritritol 2,4-ciclodifosfato sintasa; E6: HMB-PP sintasa; E7: HMB-PP reductasa; E8: geranil difosfato sintasa. Modificado de Karunanithi & Zerbe (2019).

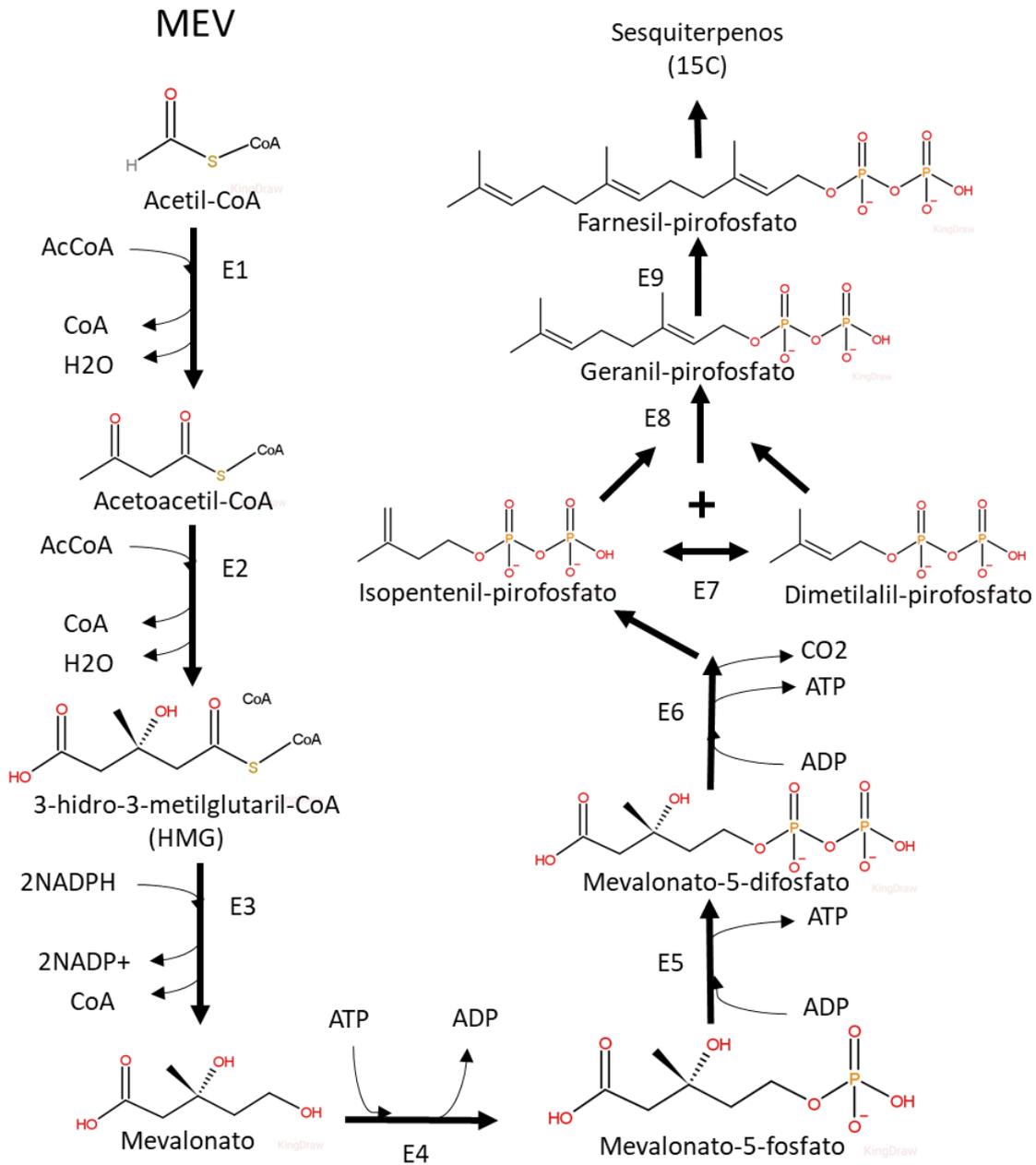


Figura 4.2. Biosíntesis de DMPP e IPP a partir de la ruta del mevalonato citosólico derivado del acetil-CoA (MEV). E1: acetoacetyl-CoA tiolasa; E2: HMG-CoA sintasa; E3: HMG-CoA reductasa; E4: mevalonato 5-cinasa; E5: fosfomevalonato cinasa; E6: mevalonato pirofosfato descarboxilasa; E7: isopentenil pirofosfato isomerasa; E8: geranil difosfato sintasa; E9: farnesil difosfato sintasa. Modificado de Ludwiczuk (2017).

El gasto energético de mantener dos rutas metabólicas que producen IPP/DMPP confiere ventajas al organismo, al permitir mayor habilidad de evolucionar hacia la síntesis de una amplia diversidad de moléculas y tener un mayor control de las reservas específicas de terpenoides de cada compartimento (Loomis & Croteau, 1980).

Los terpenos son sintetizados primordialmente en citosol y cloroplastos, pero se almacenan en estructuras de secreción especializadas localizadas en lugares donde sea más efectiva la defensa, que pueden ser los tricomas en la superficie de las hojas, conductos de resina y laticíferos en los tejidos de los árboles, bolsas a lo largo de la epidermis de los tallos primarios y en los frutos (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

4.2.1.1. Monoterpenos y sesquiterpenos

La unión de dos moléculas de cinco carbonos da origen a los monoterpenos (C₁₀) y la unión de tres moléculas origina a los sesquiterpenos (C₁₅; Loomis & Croteau, 1980). Los monoterpenos y sesquiterpenos son referidos como “los terpenoides de bajo peso molecular o inferiores”, la mayoría son liposolubles y se les puede encontrar principalmente en los aceites esenciales. De hecho, los monoterpenos y sesquiterpenos destacan por su alto grado de volatilidad y su influencia significativa en las interacciones de las comunidades y ecosistemas (Figura 4.3, Langenheim, 1994).

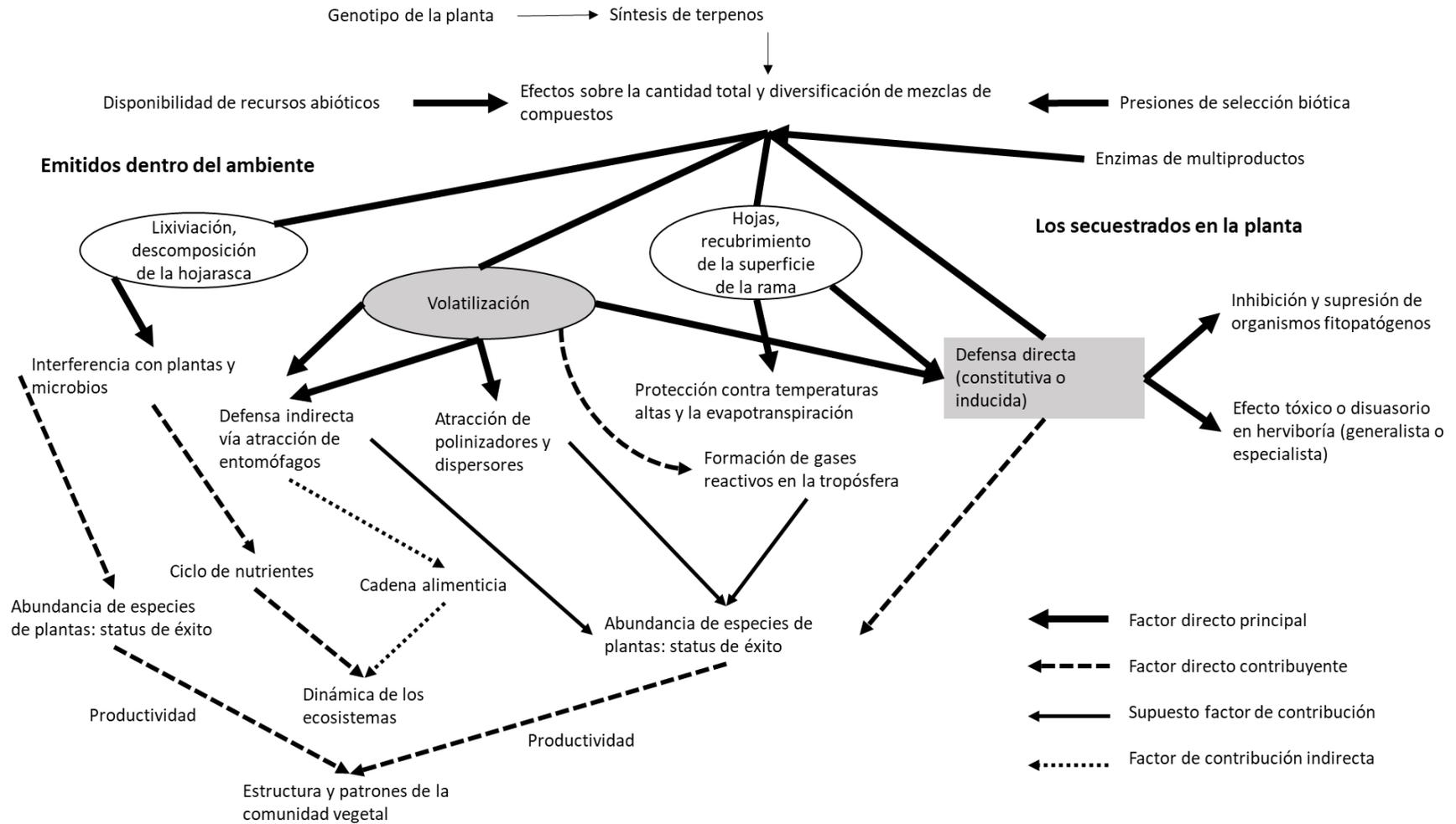


Figura 4.3. Los mayores roles centrales de los terpenoides en ecosistemas y comunidades terrestres de plantas superiores. Modificado de Langenheim (1994).

Los C10 y C15 son liberados como defensa directa después de un ataque de herbivoría por insectos, microorganismos o mamíferos, pero también han evolucionado en la defensa indirecta al atraer depredadores naturales de los herbívoros que causan el daño (Cheng, *et al* 2007). Se ha encontrado que algunos C15 proporcionan más protección directa, mientras que los C10 realizan ambas tareas (Mumm, *et al* 2008).

La síntesis de las mezclas de terpenoides pueden ser constitutivos o inducibles y varían en su composición dependiendo de las condiciones genéticas, ecológicas, ambientales y fisiográficas. La razón de que se liberan mezclas complejas es confundir la capacidad de los herbívoros para desarrollar resistencia contra la planta y, por lo tanto, evitar la reducción de la efectividad de la defensa (Langenheim, 1994).

4.2.2. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos se caracterizan por tener al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos unidos (Crozier, *et al* 2006). El compuesto básico es el fenol, aunque la mayoría de estos compuestos son polifenoles (Azcón-Bieto & Talón, 2013).

Los fenoles se clasifican de acuerdo con el número de átomos de carbono de su estructura básica (Tabla 4.3) y se les puede dividir en no flavonoides y flavonoides (Crozier, *et al* 2006). Los no flavonoides abarcan a los fenoles libres, ácidos fenólicos y fenilpropanoides, que estos a su vez se dividen en ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, fenilpropenos, ligninas, lignanos y neolignanos. Los flavonoides se clasifican en más de 10 clases, tales como las flavonas, isoflavonas, flavonoles, flavanonas, estilbenos y antocianinas (Harborne, 1973).

Tabla 4.3. Clasificación de los compuestos fenólicos.

Estructura	Clase
C6	Fenoles simples
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Acetofenonas, ácidos fenilacéticos
C6-C3	Ácidos, alcoholes y aldehídos cinámicos, fenilpropenos
C6-C3	Cumarinas, isocumarinas, cromonas
C15	Chalconas, auronas
C15	Flavanos
C15	Flavonas
C15	Flavanonas
C15	Flavonoles

C15	Antocianinas
C15	Antocianidinas
C30	Biflavoniles
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzofenonas, xantonas, estilbenos
C6, C10, C14	Quinonas
C18	Betacianinas
(C6-C3)₂	Lignanos, neolignanos
(C6-C3)_N	Lignina
(C6-C3-C6)_n	Taninos
(C6)_n	Melaninas de catecol

Tomado de Vermerris & Nicholson (2008) y de Lattanzio (2013).

La síntesis de compuestos fenólicos en plantas superiores sucede por dos vías, (1) por la vía del ácido shikímico-fenilpropanoides (predominante en plantas) y/o (2) por la vía del malonato-policétido-fenilpropanoides (predominante en bacterias, hongos y plantas; Azcón-Bieto & Talón, 2013).

La ruta del ácido shikímico es muy importante para la síntesis de los aminoácidos aromáticos fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) y triptófano (Trp) como precursores principales de los fenilpropanoides. Por otro lado, la ruta de policétidos participa posteriormente en la biosíntesis de flavonoides (Vermerris & Nicholson, 2008).

El metabolismo de los fenilpropanoides da inicio con la desaminación de la Phe y la Tyr, ambos canalizan para derivar al ácido *p*-cumárico, metabolito intermediario que conduce a la formación de todos los compuestos fenólicos (Figura 4.4). Hay varios sitios donde ocurre la síntesis de los compuestos fenólicos y se puede ubicar principalmente en el citoplasma, aunque también se ha encontrado en retículo endoplásmico y cloroplasto, y finalmente son almacenados en la vacuola (Matsuki, 1996).

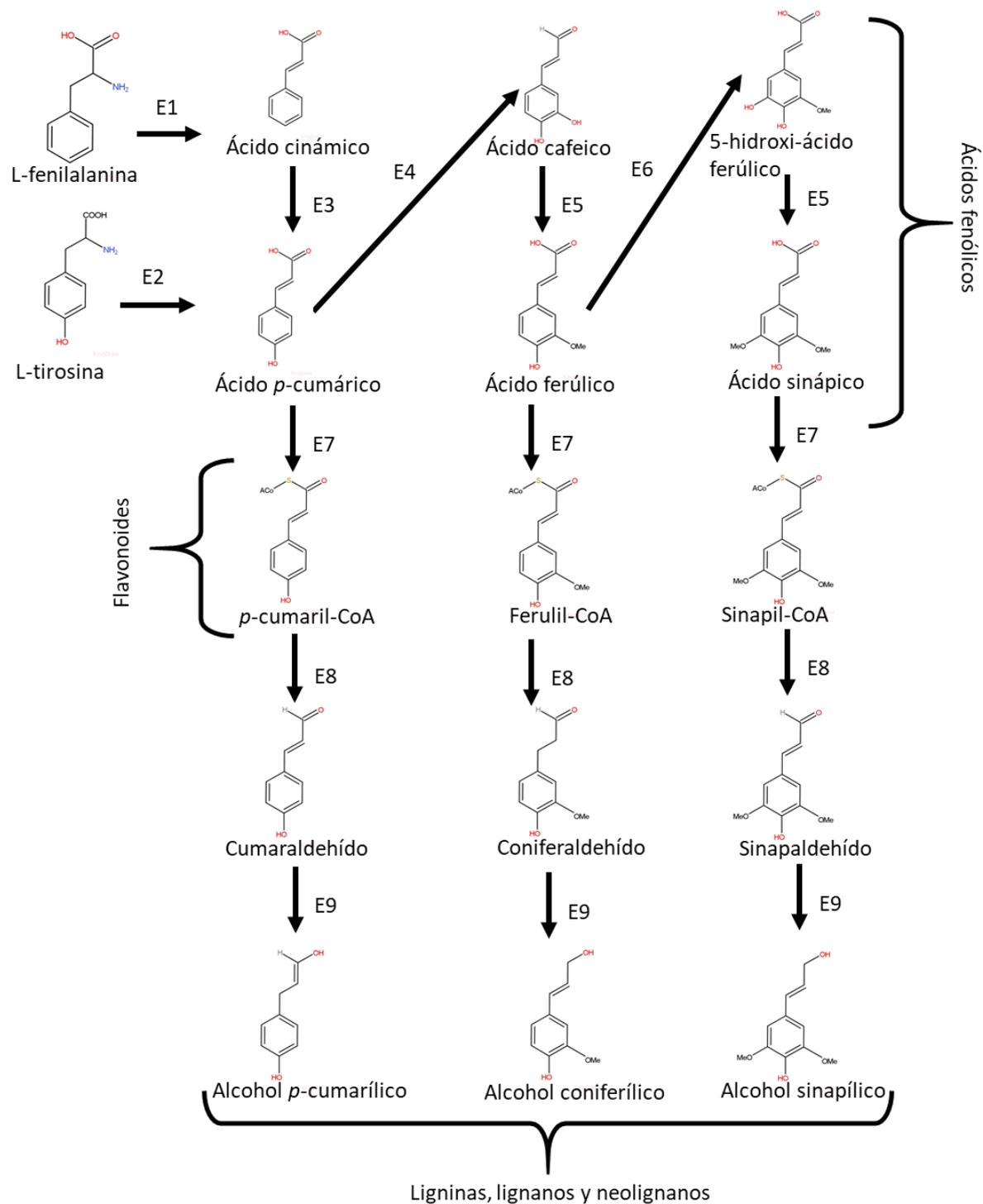


Figura 4.4. Biosíntesis de compuestos fenólicos. E1: fenilalanina amonía-liasa, E2: tirosina amonía-liasa, E3: cinamato-4-hidroxilasa, E4: p-cumarato-3-hidroxilasa, E5: O-metil-transferasa, E6: ferulato-5-hidroxilasa, E7: hidroxicinamato C o A ligasa, E8: cinamil-CoA: NADPH oxidoreductasa, E9: cinamil alcohol dehidrogenasa. Modificado de Lewis (1994).

La principal función de los compuestos fenólicos tiene un enfoque ecológico, está centrada especialmente en prevenir la toma de nutrientes de la planta tras el

comportamiento alimenticio de los fitófagos. Aunque, en general ellos actúan como agentes protectores de factores abióticos, como la luz solar y bajas temperaturas, modulan indirectamente el crecimiento vegetal, la nutrición mineral, funcionan como pigmentos y aromas de flores y frutas, y como inhibidores y tóxicos naturales para animales y organismos invasores (McClure, 1979; Lattanzio, 2013).

4.2.2.1. Fenoles libres, ácidos fenólicos y fenilpropenos

Los fenoles libres y los ácidos fenólicos se consideran en conjunto, debido a que son usualmente identificados en conjunto durante un análisis fitoquímico. En contraste con los ácidos fenólicos, los fenoles libres son relativamente raros en las plantas, pero son muy importantes debido a que determinan la estructura de otros compuestos fenólicos como los flavonoides (Harborne, 1973). Y al igual que los ácidos fenólicos, cumplen funciones de defensa y protección a daño de tejido vegetal (Mishra, 2013).

Estrictamente los ácidos fenólicos tienen un anillo bencénico, un ácido carboxílico y uno o más grupos hidroxilos que pueden ser metilados y convertirse en grupos metoxi. Naturalmente, ocurren como ésteres o éteres combinados con azúcares y es muy común que se almacenen en la vacuola o en tejidos especiales como precursores de otros compuestos (Torres, 1987). Sin embargo, al haber una herida o ruptura de tejido éstos se liberan y son rápidamente oxidados, sea atmosférica o enzimáticamente, puesto que están involucrados en las reacciones de oscurecimiento de la pulpa de frutos, como el caso del aguacate, manzana y uvas (Torres, 1987; Robards, 1999).

El rol de los ácidos fenólicos es variado, se señala que los ácidos fenólicos van acumulándose paulatinamente conforme avanza el estado de madurez de una fruta (Mahmood, 2012). Del mismo modo, los ácidos fenólicos funcionan como fotoprotectores, ejemplo de ello, es el fruto de tomate, donde su contenido es significativamente afectado por la calidad espectral de la radiación UV solar (Luthria, 2006).

Los ácidos fenólicos se les ha encontrado como reforzadores de la pared celular ante bajas temperaturas, contra exceso de radiación y defensa a insectos (Solecka, 2003). Un estudio reportó que los ácidos fenólicos aumentan su contenido en las raíces de *Glycine max* como respuesta a la aclimatación de las heladas, esto sugiere que probablemente se concentran en la pared celular como crioprotectores (Janas, 2000). Por otro lado, se analizó la

respuesta ante herbivoría causada por insectos masticadores en plantas de algodón, en donde se observó una mayor acumulación de ácidos fenólicos, los cuales afectaron la fisiología de los insectos (Dixit, 2017).

Además, los ácidos fenólicos fungen como aleloquímicos al inhibir el crecimiento y lignificación de otras plantas (Einhellig, et al 2004). Se señala que la baja fertilidad de suelo y productividad de álamo (*Populus × euramericana*) está correlacionada con la acumulación de ácidos fenólicos en el suelo. Se encontró que el aumento en las concentraciones de ácidos fenólicos en el suelo afecta negativamente enzimas involucradas en la asimilación de nitrógeno e inhibe la productividad fotosintética (Li, et al 2018c). Dos Santos (2008) indica que el ácido ferúlico es un aleloquímico muy común que se une a los polisacáridos de la membrana celular vegetal impidiendo la expansión celular, elongación de la raíz y toma de nutrientes.

Los fenilpropenos son compuestos C6-C3 derivados de la fenilalanina mediante la modificación de su anillo de benceno y la reducción de su cadena lateral de propileno, con el paso final de reducción catalizado por una fenilpropeno sintasa específica del producto. La ruta de biosíntesis de fenilpropenos diverge de la ruta de síntesis de lignina, justo de los monolignoles alcohol coniferil y alcohol *p*-cumaril para formar a los precursores acetato de coniferil y de *p*-cumaril, respectivamente (Koeduka, 2013).

Los fenilpropenos también denominados fenoles volátiles, debido a que son emitidos por las plantas y que contribuyen en aspectos relacionados con respuesta a estímulos abióticos y bióticos (Atkinson, 2016). Aunado a ello, son moléculas responsables de los aromas y sabores de muchas plantas y de frutas que ayudan a la atracción de animales dispersores (Schieber & Wüst, 2020). Se almacenan principalmente en los tricomas glandulares superficiales y frutas (Iijima, et al 2004), aunque también pueden formar parte de los exudados de raíces (Atkinson, 2016).

De igual importancia, cumplen funciones de defensa contra la herbivoría de insectos como biocidas y antialimentarios (Wang, 2018; Saad, 2019; Al-Nagar, 2020). Dos fenilpropenos, trans-cinamaldehído y eugenol, mostraron relevante actividad insecticida contra *Sitophilus oryzae* (Saad, et al 2018). Bhardwaj et al (2010) y Abdelgaleil, et al (2020) reportaron la actividad larvicida y antialimentaria de varios fenilpropenos y derivados en larvas del género *Spodoptera* spp.

Poseen actividad antifúngica y antibacteriana, así como herbicida (Brader, *et al* 1997; Marei & Abdelgaleil, 2018). Los fenilpropanos eugenol, isoeugenol, dihidroeuogenol y 6-metoxieugenol se aislaron de las hojas de *Illicium anisatum* y exhibieron actividad antifúngica contra los hongos fitopatógenos *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora infestans* (Koeduka, *et al* 2013). En un reporte se evaluó el potencial herbicida de fenilpropanos contra el pasto *Echinochloa crus-galli* y se encontró que son capaces de inhibir severamente el crecimiento (Saad, 2019a).

4.2.2.2. Lignanos y neolignanos

De los procesos bioquímicos que ocurren dentro de las plantas, la ruta de los fenilpropanoides es indudablemente la más importante para una exitosa colonización del suelo, debido a que conduce a la síntesis de lignina, un polímero que da soporte y rigidez a los tejidos de las plantas vasculares leñosas, pero también da origen a los lignanos y neolignanos (Lewis & Davin, 1994).

Los lignanos y neolignanos están distribuidos en plantas pteridófitas, gimnospermas y angiospermas. Evolutivamente, las pteridófitas contienen los lignanos y neolignanos más simples y las gimnospermas y angiospermas presentan un incremento progresivo en la complejidad estructural de estos (Lewis & Davin, 1994). Interesantemente, estos compuestos se le ha ubicado en todos los diferentes órganos y tejidos, raíces, follaje, flores, frutos, espinas, tallo, corteza y duramen (Willför, *et al* 2006).

Los lignanos y neolignanos son dímeros de varios fenoles C6-C3 y representan el siguiente nivel de complejidad estructural más allá de los monolignoles (materiales de origen para la síntesis de lignina), alcohol cumarílico, alcohol sinapílico y alcohol coniferílico (Davin & Lewis, 1992). Los lignanos son dímeros que se unen por un enlace $8\beta-8'\beta'$, así que la primera unidad de C6-C3 se numera de 1 al 9 y la segunda unidad que se une se numera de 1' al 9'. El término neolignano se asignó para todos aquellos dímeros de C6-C3 que se unen por un enlace diferente de $8\beta-8'\beta'$ (Moss, 2000).

Los lignanos y neolignanos se involucran en la barrera de defensa química contra daño causado por fitófagos y fitopatógenos y se les puede caracterizar por su alta actividad biocida (Gottlieb & Yoshida, 1989). La planta acuática *Saururus cernuus* posee un gran valor nutrimental y textura suave, sin embargo, siempre ha mostrado una baja preferencia por cangrejos omnívoros. Kubanek *et al* (2001) demostraron que esta baja preferencia se

debía a la presencia de los lignoides, (-) licarin A, (+) saucermetin, (-) ácido dihidroguaiaretico, (-) sauriol A y B, (-) saucerneol y (-) eter metílico de saucerneol.

Los lignanos y neolignanos han mostrado actividad en contra de diversos insectos. En un estudio, el neolignano oocimosin demostró su actividad insecticida contra el mosquito *A. aegypti* (Rakotondraibe, *et al* 2015). En el estudio de Cabral *et al* (2000) se observaron que el pinoresinol y ácido nordihidroguaiaretico tuvieron efectos inhibitorios en la ecdisis del cuarto estado larvario de *Rhodnius prolixus*, mientras que la podofilotoxina y burchellin redujeron significativamente la excreción de la chinche. En otro estudio, el hemíptero *Myzus persicae* fue expuesto a los lignanos secoisolariciresinol diglucósido y del dehidrodiconiferil alcohol-4- β -D-glucósido, los cuales demostraron poseer propiedades insecticidas contra el áfido (Saguez, *et al* 2013).

Los lignanos y neolignanos poseen actividad biológica contra protozoarios parásitos, hongos fitopatógenos y bacterias (Luo, *et al* 2012b). Los lignanos licarin A y burchellin fueron evaluados en *Trypanosoma cruzi*. Los resultados mostraron que ambos metabolitos secundarios tuvieron toxicidad en el parásito (Cabral, *et al* 2010). Por otro lado, los cultivos celulares de *Linum album* se expusieron a extractos fúngicos de *Fusarium graminearum* y *Rhizopus stolonifer*, en donde se observó un aumento considerable del lignano podofilotoxina y lariciresinol, respectivamente (Bahabadi, *et al* 2011).

Los lignoides pueden participar en la biosíntesis de lignina, teniendo roles importantes en determinar las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de la pared celular y otros cumplen roles antioxidantes (Lewis, *et al* 1995). Los lignanos y neolignanos funcionan como armas alelopáticas para competir contra otras plantas por recursos (DellaGreca, *et al* 2013) y tienen la capacidad de inhibir la germinación de semillas, la elongación de la raíz y el crecimiento del brote (Cutillo, *et al* 2003).

4.2.2.3. Flavanonas y flavonas

Los flavonoides son el subgrupo más extenso y principal de los fenoles, se caracterizan por ser moléculas basadas en una estructura de 15 carbonos. Su síntesis implica la participación de la vía del ácido shikímico (vía 1) y de la vía de malonato-policétidos (vía 2; Swain, 2013; Figura 4.5).

El inicio de su biosíntesis comienza con el enlazamiento del fenilpropanoide ácido *p*-cumárico obtenido de la vía (1) y tres unidades de malonil-CoA obtenidos de la vía (2) que da origen a las chalconas, precursores intermediarios para la biosíntesis de los flavonoides como flavanonas, flavones y flavonoles (Lattanzio, 2013).

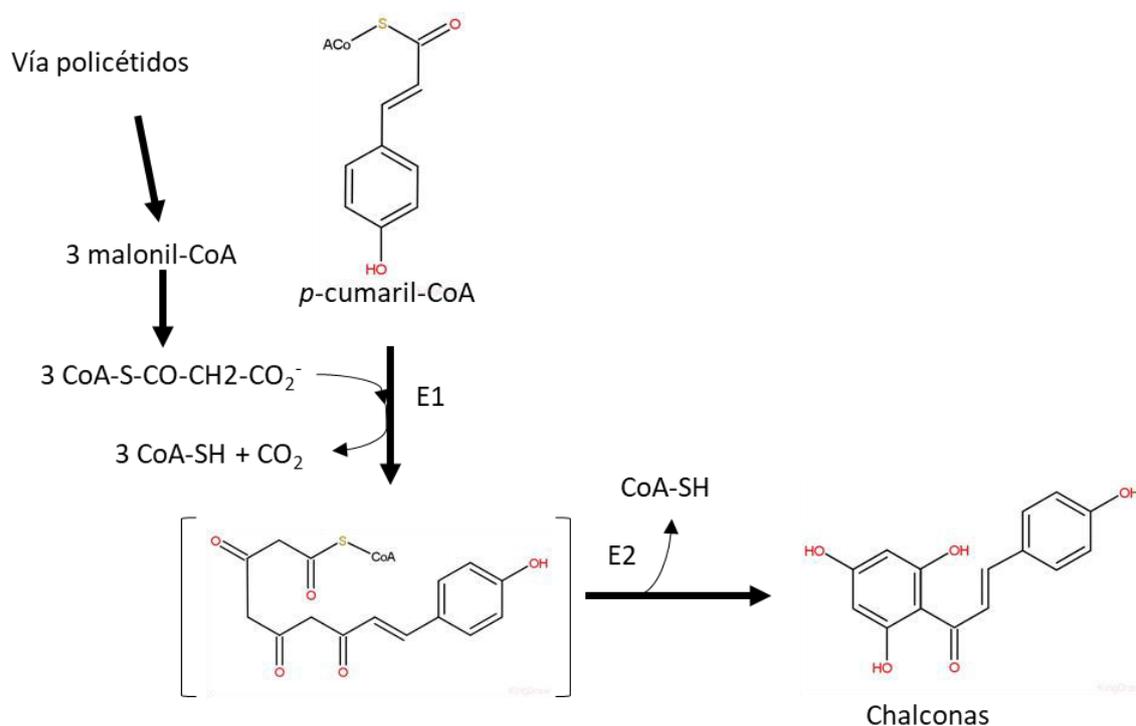


Figura 4.5. Vía para la biosíntesis de flavonoides. E1: chalcona sintasa E2: chalcona isomerasa. Adaptado de QMUL (2021c).

Las chalconas se caracterizan por ser inestables, lo que favorece la formación, casi espontánea, a pH fisiológico de las flavanonas con intervención de la chalcona isomerasa (Figura 4.5). Enseguida, las flavanonas actúan como sustratos de la flavona sintasa, una enzima clave para la formación de flavonas que cataliza una reacción de deshidratación sobre las flavanonas (Nakatsuka, *et al* 2005).

Los flavonoides se involucran en diversas actividades biológicas, como en la respuesta de defensa y diversas tareas fisiológicas específicas (Khlestkina, 2013). Aunque se ha postulado que los flavonoides no están determinados por la presión de herbivoría, sino que con el tiempo adaptaron la condición de participar en funciones de defensa vegetal (Matsuki, 1996; Jorgensen, 1993).

Una de las funciones especiales de estas moléculas es dar pigmentación a los frutos y flores, que ecológicamente funcionan como atractivos de dispersores de semillas y polinizadores, operan en la captación de rayos UV, la fertilidad y la resistencia a las enfermedades (Schijlen, *et al* 2004). Así mismo, pueden jugar un rol de defensa ante condiciones de estrés (Shoeva, *et al* 2016).

En sí, las flavanonas no han sido revisadas a detalle en sus papeles fisiológicos y ecológicos, pero a algunas se les ha encontrado como fitoalexinas antifúngicas y fitotóxicos (Ortuño, *et al* 2006; Beninger, *et al* 2004). En una investigación se aisló la flavanona sakuranetina inducida por luz UV en hojas de arroz, la cual inhibió la germinación de esporas del hongo *Pyriculariu oryzae* (Kodama, *et al* 1992).

Ortuño y colaboradores (1995) indicaron que las flavanonas también funcionan como moléculas responsables del aroma de las frutas en sus diferentes estados de maduración. Como en el caso de las frutas de toronja, las flavanonas narirutina, naringina y neohesperidina son las causantes de su aroma y la concentración varía con el estado de desarrollo, siendo el estado juvenil donde más se concentran.

Las flavonas son la subclase más grande de los flavonoides, se les ha encontrado distribuidas en casi todos los tejidos de las plantas y cumplen múltiples roles, tanto de interacción con otros organismos como fisiológicos (Martens & Mithöfer, 2005).

Hallazgos muestran que las flavonas tienen una biosíntesis temporal que intervienen en el crecimiento y maduración floral (Zuk, *et al* 2019). Se ha encontrado su participación en los procesos de comunicación química siendo moléculas de señalamiento (Broughton, *et al* 2000), así como su importancia crítica en el desarrollo de nódulos fijadores de nitrógeno (Zhang, *et al* 2009b) y actividad alelopática (Kong, *et al* 2007). También poseen funciones de defensa contra algunos microorganismos (Soriano, *et al* 2004) y la coloración floral que atrae polinizadores (Miller, 2011).

4.2.3. Alcaloides

Se le define a los alcaloides como sustancias orgánicas que contienen nitrógeno con grados altos o bajos de carácter básico (Hesse, 2002). Se les distingue por generarse a través de las rutas de biosíntesis más complejas (una gran parte aún no dilucidada), al igual que sus estructuras químicas. Su distribución se ha notado mayoritariamente en plantas, pero hay un notable aumento de alcaloides aislados de animales vertebrados,

insectos, invertebrados marinos y microorganismos (Roberts, 2013). Sin embargo, a los alcaloides se les puede restringir solo a ciertos grupos taxonómicos, incluso género o especie, a pesar de que ya son más de 10,000 moléculas diferentes en el grupo (Craker, 2018).

Los alcaloides son clasificados normalmente con base a su origen y forma estructural, y de acuerdo con esto hay tres tipos: alcaloides verdaderos, protoalcaloides y pseudoalcaloides (Aniszewski, 2015). Los alcaloides verdaderos son aquellos derivados de aminoácidos y que poseen un átomo de nitrógeno que forma parte de un heterociclo. Los protoalcaloides se forman de aminoácidos y aminas biógenas (ornitina, putrescina) en donde el nitrógeno se encuentra en una cadena alifática y no en un sistema heterocíclico (Robinson, 1981). Los pseudoalcaloides se les denomina así porque no provienen de aminoácidos, sino de metabolitos intermediarios libres (acetato, piruvato, geraniol) y compuestos que contienen nitrógeno (adenina, guanina; Aniszewski, 2015). En general, cada tipo de alcaloide se divide y se agrupa según los compuestos precursores de los que provengan (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Principales tipos de alcaloides y sus agrupaciones químicas.

Tipo de alcaloide	Compuesto precursor	Grupo de alcaloide
Alcaloides verdaderos	L-ornitina	Pirrolina
		Tropano
		Pirrolizidina
	L-lisina	Piperidina
		Quinolizidina
		Indolizina
	L-tirosina	Isoquinolina
	L-fenilalanina	
	L-triptofano	Indólicos
		Quinolina
		Pirroloindólico
		Ergot
	L-histidina	Imidazólicos
		Manzamina
Protoalcaloides	Ácido antranílico	Quinazoline
		Quinolina
		Acridone/Acridina
	Ácido nicotínico	Piridina
	L-tirosina	Feniletilamina

	L-triptofano	Indólicos de terpenoides
	L-ornitina	Pirrolizidina
Pseudoalcaloides	Acetato	Piperidina
		Sesquiterpeno
	Ácido pirúvico	Ephedra
	Ácido ferúlico	Aromático
	Geraniol	Terpenoide
	Saponinas	Esteroides
	Adenina/Guanina	Purina

Modificado de Shamma (2012).

Los alcaloides son compuestos activos y sus roles fisiológicos no se conocen a detalle, pero se sugiere que dentro de la planta constituyen reservorios de nitrógeno. Aunque su principal función es formar parte del arsenal de defensa químico contra herbívoros y patógenos (Facchini, 2001). Se les puede caracterizar como repelentes, disuasorios, antialimentarios, tóxicos, alelopáticos e inhibidores de la germinación (Wink, 2008).

La mayoría de los alcaloides poseen alta toxicidad y deben ser colocados en un sitio especial dentro de la célula, así como permanecer en las concentraciones suficientes para funcionar como una defensa adecuada. Frecuentemente se transportan a la vacuola por medio de mecanismos complejos que ayudan a su toma y subsecuente secuestro. Dichos mecanismos, permiten de manera segura, aislarlos de sus efectos bioactivos y mantenerlos fuera del alcance del citoplasma (Ziegler & Facchini, 2008).

Los alcaloides de aporfina, benzofenantridina, protoberberinas y protopinas forman parte del grupo de las isoquinolinas (Bentley, 1975; Shamma, 2012). La biosíntesis de isoquinolinas normalmente comienza con la norcoclaurina que se forma por la unión de dopamina y 4-hidroxi-fenilacetaldehído, ambos precursores son obtenidos de la tirosina por medio de la enzima clave tirosina/dopamina descarboxilasa (TYDC o DODC; Figura 4.6). Las bencilisoquinolinas derivadas a partir de la norcoclaurina darán lugar a la formación de la (s)-reticulina que dará origen a las aporfinas, y a la (S)-scoulerina que permitirá formar benzofenantridinas (Facchini & De Luca, 1995; Morris & Facchini, 2016).

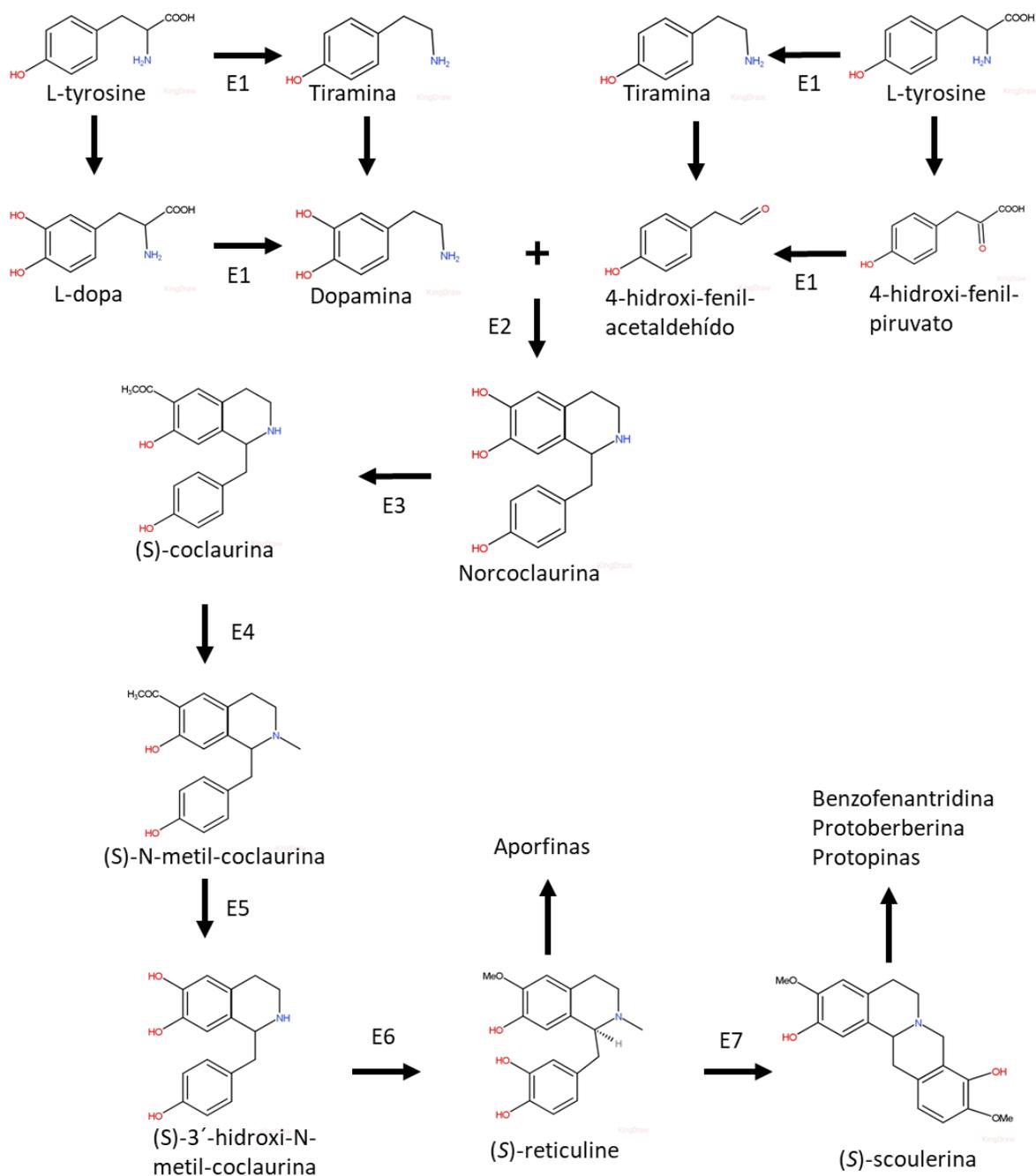


Figura 4.6. Ruta para la biosíntesis de isoquinolinas. E1: tirosina/dopamina descarboxilasa; E2: norcoclaurina sintasa; E3: norcoclaurina 6-O-metiltransferasa; E4: coclaurina-N-metil-transferasa; E5: N-metil-coclaurina hidroxilasa; E6: (RS)-3'-hidroxi-N-metil-coclaurina 4'- O-metil-transferasa; E7: enzima tipo puente de berberina. Modificado de Facchini & De Luca (1995), Morris & Facchini (2016) y Huang *et al* (2021).

Las isoquinolinas son un grupo importante por sus amplios rangos de bioactividades (Shang, 2020). A dicho grupo, se le han demostrado funciones antifúngicas, antibactericidas, antivirales y antiparasitarias como antiplasmodial y antiamoéfica

(Wright, *et al* 2000; Tims, 2006; Qing, 2017). El alcaloide bencilisoquinolínico liriodenina, aislado de *Annona diversifolia*, inhibió el crecimiento de los fitopatógenos *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus glaucus*, principales responsables del deterioro de las semillas de la especie anonácea (De la Cruz Chacón & González-Esquinca, 2012). En el trabajo de Zhao *et al* (2019) demostraron la efectividad antifúngica de alcaloides de benzofenantridina (sanguinarina, queleritrina, azoxistrobina) contra diversos hongos fitopatógenos, entre estos *R. solani*, *F. graminearum*, *M. melonis*, *F. oxysporum*, *S. sclerotiorum* y *M. oryzae*.

Se les puede resaltar su poder disuasorio alimenticio a causa de sus sabores amargos y sus actividades citotóxicas dentro de la célula animal y vegetal (Wink, 1998a; Wink, 2008). Se reportó que los alcaloides de aporfina magnoflorina y tembetarina mostraron potente actividad antialimentaria en el gusano cogollero de maíz *Spodoptera frugiperda* (Tringali, *et al* 2001). Otro estudio reportó que alcaloides bencilisoquinolínicos (berberina, sanguinarina, papaverina y ácido aristolóquico) tuvieron significativa actividad inhibitoria en la alimentación de la larva de *Lymantria dispar* (Miller & Feeny, 1983). Mientras que los resultados del estudio de Talontsi *et al* (2011) demostraron que los alcaloides 10-O-demetil-17-O-metilisoarnottianamida y 6-acetonil-N-metil-dihidrodecarina son tóxicos para la larva del mosquito *Anopheles gambiae*.

4.2.4. Lípidos

Los lípidos son una de las clases de moléculas biológicas más grandes y son tan importantes como otras biomoléculas (carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos). De hecho, pueden ser muy importantes para ciertos organismos. Los lípidos poseen diversas funciones, principalmente fisiológicas y celulares. La estructura de las membranas celulares está constituida por distintas composiciones de lípidos, entre éstos ácidos grasos y esteroides (Sargent, *et al* 2003; Van Meer, *et al* 2008).

Los lípidos participan en mecanismos de transporte como el transporte vesicular y por lipoproteínas. También, se sabe que los lípidos son capaces de regular enzimas membranales y actuar como moléculas de señalización en donde se involucran glicerolípidos, esfingolípidos, ácidos grasos, entre otras. Pero el rol más distinguido de los lípidos es funcionar como moléculas de almacenamiento de energía (Sprong, *et al* 2001; Wang, 2004).

4.2.4.1. Lípidos de semilla

Las semillas albergan lípidos funcionales (estructurales) como los fosfolípidos y esteroides que forman parte de las membranas celulares y lípidos de almacenamiento, principalmente triglicéridos (TAG, Graham, 2008). Los lípidos de almacenamiento sirven como reservorios de energía para ser movilizados y degradados por enzimas específicas bajo algún daño por ruptura, ya sea enfermedad, factores de estrés, deterioro o proceso de germinación (Angelo & Ory, 1983).

La mayoría de las espermatofitas utilizan los reservorios de lípidos como fuente de alimento para la germinación y crecimiento post-germinativo (Huang, 1996). Durante el proceso de germinación es posible observar una disminución en la cantidad de los lípidos almacenados (Wanasundara, 1999) que son guardados en los compartimentos de almacenamiento subcelular denominados gotas de lípidos citosólicos (De Vries & Ischebeck, 2020).

Información bioquímica y ecológica sustentan que las semillas de plantas con una mayor proporción de ácidos grasos insaturados germinan más temprano en temperaturas más bajas debido al punto de fusión en comparación con aquellas que poseen una proporción más alta de ácidos grasos saturados (Linder, 2000). Adicionalmente, Levin (1974) señala que el peso de las semillas está estrechamente relacionado con la naturaleza del hábitat donde se establezca la plántula y que el tamaño tiende a incrementar conforme la planta es más leñosa, aunque esto no significa que también haya un incremento en el contenido calórico, sino que es una variable independiente.

4.2.4.2. Lípidos de la sarcotesta

El término sarcotesta o arilo es aplicado a la pulpa y parte comestible de la cobertura de una semilla (Boesewinkel & Bouman, 1984). Las semillas con sarcotesta son atractivamente coloreadas y son un claro ejemplo adaptativo a la zoocoria (dispersión por animales; van der Pijl, 1982). Una sarcotesta siempre es proseguida por una parte dura, las capas de esclerénquima como una protección contra daño mecánico tras su digestión cuando son comidas por animales (Boesewinkel & Bouman, 1984).

Las semillas con cubierta carnosa color rojo carmesí, como las de magnolias, dependen específicamente de aves dispersoras de semilla debido a que solo ellas pueden detectar el color rojo de la pulpa, determinado principalmente por licopeno y en menor cantidad β -caroteno (Bauman & Yokoyama, 1975). En esencia, la sarcotesta sirve a las aves como alimento porque brinda nutrientes tales como azúcares, lípidos y proteínas, pero también funciona como barrera protectora contra la deshidratación e inhibe la germinación de la semilla (Stiles, 1980). Por lo tanto, un buen porcentaje de los lípidos que alberga una sarcotesta está dirigido a brindar energía y nutrientes a sus dispersores de semillas.

4.3. Grupos de compuestos químicos seleccionados con potencial insecticida

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos de la revisión de los roles biológicos, los grupos de moléculas seleccionados de *Argemone* y *Magnolia* son mostrados en la Figura 4.7.

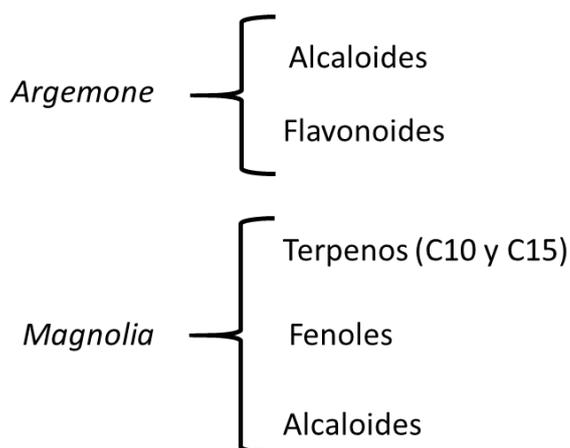


Figura 4.7. Grupos de compuestos químicos seleccionados con potencial insecticida.

Los compuestos de dichos grupos tienen mayor probabilidad de actuar como insecticida contra la mosca mexicana de la fruta *A. ludens* debido a que tienen roles en la defensa contra insectos.

4.4. Selección de compuestos candidatos y descripción de rutas de biosíntesis y modos de acción.

4.4.1. *Argemone*

Los compuestos de los grupos químicos seleccionados cumplen con la condición de ser aislados o estar presentes en la semilla de al menos una de las cuatro especies de *Argemone*, *A. grandiflora*, *A. platyceras*, *A. mexicana* y *A. ochroleuca* (Figura 4.8).

La sanguinarina (6) y la berberina (9) están presentes en tres especies; y la dihidrosanguinarina (1), dihidroqueleritrina (2), protopina (5), queleritrina (8) y copsitina (7) en dos especies. El resto de los compuestos solo están en una de las cuatro especies (3, 4, 6, 28, 29, 30 y 31; Figura 4.8).

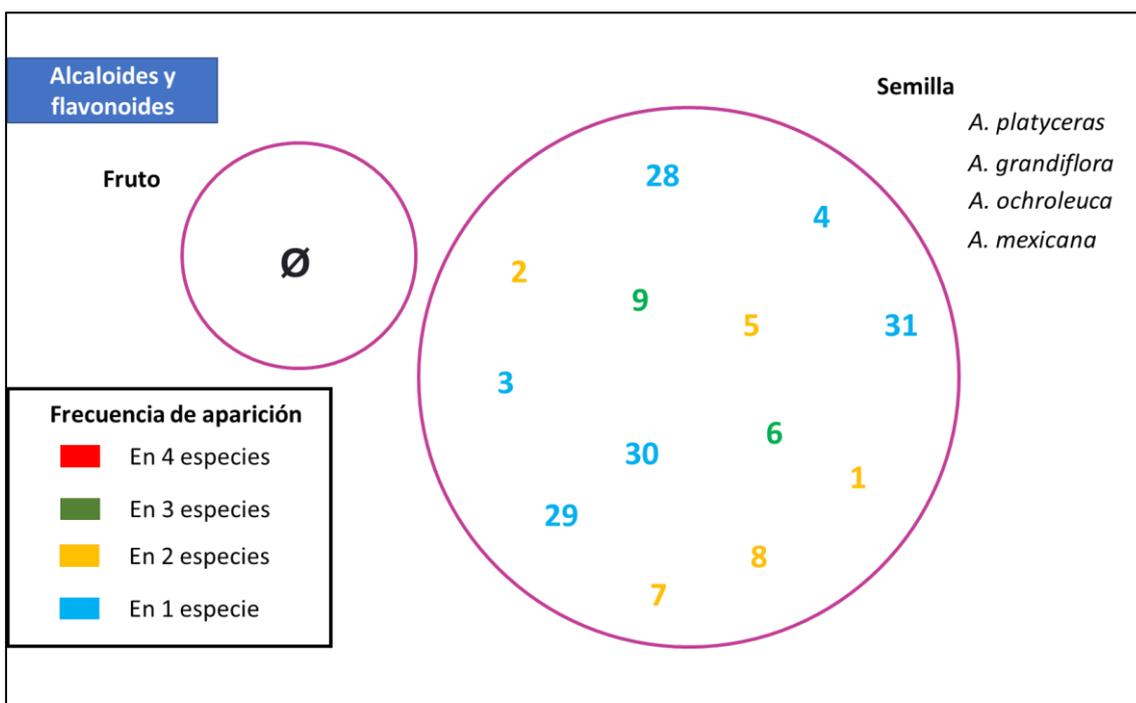


Figura 4.8. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en *Argemone* spp. El diagrama de Venn muestra el conjunto de alcaloide y flavonoides de las semillas de *Argemone* y el conjunto vacío (\emptyset) de compuestos no encontrados en frutos de *Argemone*. Los colores representan la frecuencia de aparición del compuesto en un total de cuatro especies.

Del total de compuestos, 10 se han evaluado al menos en una plaga artrópoda. Los compuestos 9, 6, 5, 1 y 8 poseen las efectividades más altas, aunque se diferencian por la especie, estadio de la plaga, y el tiempo de evaluación (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Potencial biocida de compuestos de semilla de *Argemone* spp contra artrópodos.

Compuesto	Actividad	Especie	Orden	Estadio	Efectividad DL ₅₀	Efectividad (otras)	Tiempo de exposición	Tipo de exposición	Referencia
Alcaloides									
Dihidrosanguinarina (1)	Larvicida	<i>Mythimna separata</i>	Lepidoptera	L3er	0.085 mg/mL	NR	96hr	Contacto	Feng, <i>et al</i> 2008
Dihidroqueleritrina (2)	Larvicida	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera	L3er		No activa a 20mg/mL	24 y 48 h	Contacto	Akampurira, 2013
Sanguinarina (6)	Larvicida	<i>Lymantria dispar</i>	Lepidoptera	L3er	4.963 µg/larva		72 h	Contacto	Zou, <i>et al</i> 2019
	Larvicida	<i>Pieris rapae L</i>	Lepidoptera	L3er		57,14% de mortalidad a 4 000mg/L.	NR	Contacto	Chun-mei, 2012
	Larvicida	<i>Bombyx mori</i>	Lepidoptera	L4to		94,4% de mortalidad a 0.3%	5 d	Contacto	Li, <i>et al</i> 2019
	Larvicida	<i>Culex pipiens pall</i>	Diptera	L4to		93% de mortalidad a 10ppm	72 h	Contacto	Ueno, <i>et al</i> 2019
Queleritrina (8)	Larvicida	<i>Culex pipiens pall</i>	Diptera	L4to	NR	DL ₁₀₀ = 100ppm (mg/L)	72 h	Contacto	Ueno, <i>et al</i> 2019
Protopina (5)	Molusquicida	<i>Lymnaea acuminata</i>	Gastropoda	A	0,08mg/L	NR	24 h	Contacto	Singh & Singh, 1999
	Larvicida	<i>Culex pipiens pall</i>	Diptera	L4to		98% de mortalidad a 100ppm	72 h	Contacto	Ueno, <i>et al</i> 2019

Allocriptopina (4)	Larvicida	<i>Culex pipiens pall</i>	Diptera	L4to	NR	DL ₉₀ = 100ppm	72 h	Contacto	Ueno, <i>et al</i> 2019	
Copsitina (7)	Larvicida	<i>Lymantria dispar</i>	Lepidoptera	L3er	>400 µg/larva	NR	72 h	Contacto	Zou, <i>et al</i> 2019	
Berberina (9)	Fototoxicidad insecticida	<i>Aedes atropalpus</i>	Diptera	L3er	Berb + UV= 8.8 ppm Berbpura= 250ppm	NR	24 h	Contacto + luz	Philogene, <i>et al</i> 1984	
	Antialimentaria	<i>Coptotermes formosanus</i>	Blattodea	A	NR	DL ₁₀₀ = 50mg/mL	7 d	Ingestión + papel filtro	Wahyudi, <i>et al</i> 2012	
	Insecticida	<i>Drosophila melanogaster</i>	Diptera	A	19.0 µg/ adulto	NR	3 h	Aplicación abdominal	Miyazawa, <i>et al</i> 2002	
	Antialimentaria	<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	L3er	NR	AF ₉₀ = 1000 mg/L	12 h	Ingestión + alimento fresco	Manosalva, <i>et al</i> 2019	
Flavonoides										
Luteolina (28)	Antialimentaria	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Hemiptera	A	NR	AF ₁₀₀ > g/cm ⁻³	100	2 h	Gráfico de Penetración Eléctrico	Goławska & Łukasik, 2012
Eriodictiol (29)	Insecticida	<i>M. domestica</i>	Diptera	A	87,09 µg/g de azúcar	NR	48 h	Alimentación	Wang, <i>et al</i> 2011	
	Larvicida	<i>Aedes albopictus</i>	Diptera	L4to	29,47 µg/g de azúcar	NR	48 h	Alimentación	Wang, <i>et al</i> 2011	

A= adulto
L4to= larva cuarto estadio
L3er= larva tercer estadio
LD= dosis letal
AF= actividad antialimentaria
NR= No reportado
GPE= Gráfico de Penetración Eléctrico

La berberina (9) se encontró evaluada en cuatro plagas diferentes, resaltando la actividad insecticida contra adultos de *Drosophila melanogaster* (Diptera; DL₅₀ 19 µg/adulto en 3 h) y actividad fototóxica contra la larva de *Aedes atropalpus* (Diptera; DL₅₀ 8.8 ppm en 24 h). La sanguinarina (6) se encontró evaluada en cuatro especies diferentes, destacando su actividad larvicida en *Culex pipiens pall* (Diptera; 98% de mortalidad a 10 ppm en 72 h) y *Lymantria dispar* (Lepidoptera; DL₅₀ 4.963 µg/larva en 72 h).

La protopina (5) se ha evaluado como molusquicida en adultos de *Lymnaea acuminata* (Mollusca) y larvicida en *Culex pipiens pall* (Diptera), con efectividades de DL₅₀ 0.08 mg/L a las 24 h y 93% de mortalidad a 100 ppm a las 72 h, respectivamente. La queleritrina (8) se evaluó en larvas del cuarto estadio de *Culex pipiens pall* (Diptera) y tuvo un valor DL₁₀₀ de 100 ppm en 72 h. La dihidrosanguinarina (1) fue evaluada en larvas del tercer estadio de *Mythimna separata* (Lepidoptera) obteniendo una DL₅₀ 0.085 mg/mL (85ppm) en 96 h.

La cospitina (7) estuvo presente en dos especies y para una actividad larvicida del 50% en *Lymantria dispar* (Lepidoptera) se necesitaron dosis mayores a 400 µg/larva en 72 h. La dihidroqueleritrina (2) no tuvo actividad biocida a una concentración de 20 mg/mL en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera) durante 24 y 48 h. El resto de los compuestos evaluados son la allocriptopina (4) y dos flavonoides: la luteolina (28) y el eriodictiol (29).

Los porcentajes de composición considerados para el criterio cuatro son mostrados en la Tabla 4.6. Se encontró que la dihidrosanguinarina (1) es el mayor constituyente de los alcaloides de la semilla de *A. mexicana* (87%) y *A. ochroleuca* (45.2%). La dihidroqueleritrina (2) está en un 30.27% en la semilla de *A. ochroleuca* y la sanguinarina (6) en un 5% en *A. mexicana*. Mientras que la berberina (9), protopina (5) y queleritrina (8) están en mayor porcentaje en la semilla de *A. ochroleuca* (13.6, 8.5 y 1.36%, respectivamente) que en la semilla de *A. mexicana*. El porcentaje de composición de

copsitina (7) no fue reportado y los porcentajes de composición de compuestos aislados de *A. platyceras* y *A. grandiflora* no fueron reportados.

Tabla 4.6. Porcentajes de composición de compuestos de los grupos químicos seleccionados de *Argemone*. Los valores están ordenados de mayor a menor.

<i>A. mexicana</i>			<i>A. ochroleuca</i>		
Clave	Compuesto	(%)	Clave	Compuesto	(%)
	Alcaloides	13%		Alcaloides	---
1	Dihidrosanguinarina	87	1	Dihidrosanguinarina	45,23
6	Sanguinarine	5	2	Dihidroqueleritrina	30,27
9	Berberina	0,57	9	Berberina	13,6
5	Protopina	0,34	5	Protopina	8,5
8	Queleritrina	0,12	8	Queleritrina	1,36
7	Copsitina	0,03	6	Sanguinarine	1,02
2	Dihidroqueleritrina	0,01			

Los compuestos 6, 9, 5, 8 y 1 se postulan como los principales candidatos, seguido de los compuestos 2 y 7. De manera adicional, debido a la escasez de compuestos, también se propone la consideración de 4, 29 y 28, aunque su presencia y porcentaje de composición no es muy relevante en *Argemone*, sus actividades insecticidas si lo son.

4.4.2. *Magnolia*

En esta revisión se han considerado los compuestos aislados de frutos, semillas y sarcotesta. Los compuestos de los grupos químicos seleccionados (terpenos, fenoles y alcaloides) provienen de frutos de *M. ovata* (48), de semillas de *M. grandiflora*, *M. denudata* y *M. officinalis* (44), y de sarcotesta de *M. kwangsiensis* (21). Las Figuras 4.9 (monoterpenos), 4.10 (sesquiterpenos) y 4.11 (fenoles y alcaloides) muestran las intersecciones en donde un compuesto puede ser común en otra estructura.

Según el primer criterio de selección y de acuerdo con los datos obtenidos, 21 compuestos se han aislado a partir de la sarcotesta (primer criterio). De los cuales, cinco compuestos están en común en tres especies (1, 14, 21, 51 y 61), nueve en dos especies (5, 7, 10, 11, 15, 26, 56, 35 y 47) y el resto solo en una especie (segundo criterio; Figura 4.9, 4.10 y 4.11).

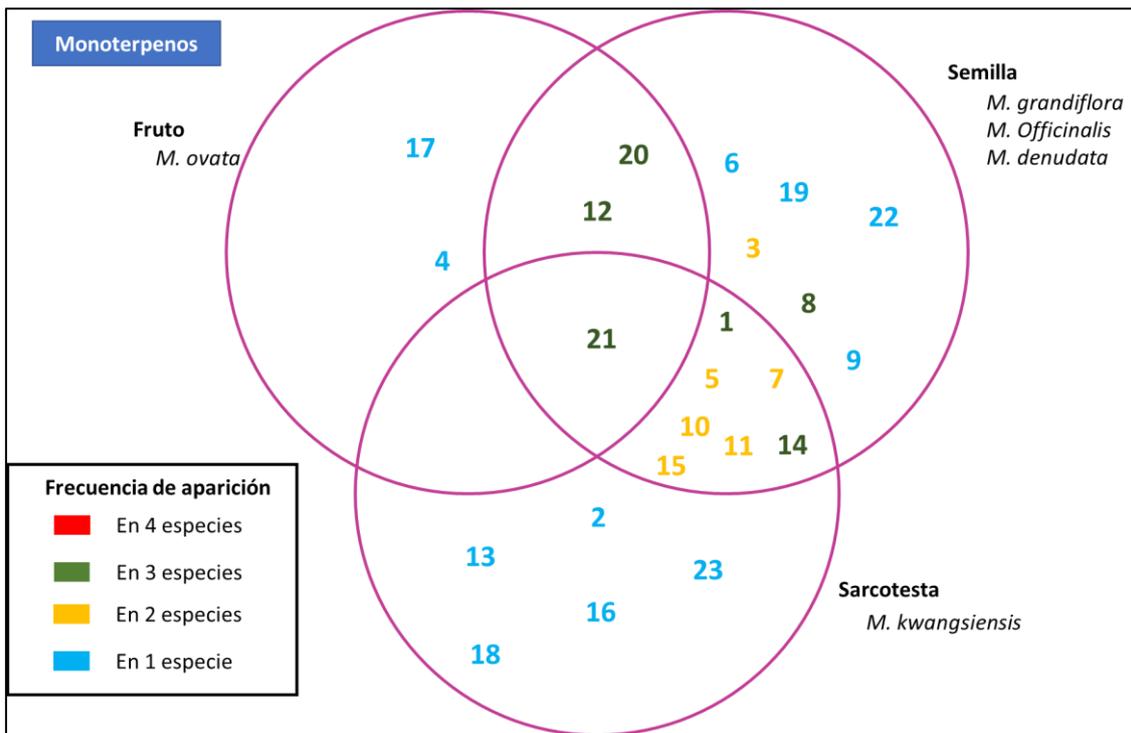


Figura 4.9. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en *Magnolia* spp. El diagrama de Venn muestra la distribución de monoterpenos en las estructuras vegetativas dentro de los conjuntos de fruto, semilla y sarcotesta; y su frecuencia de aparición representado por los colores en un total de cinco especies.

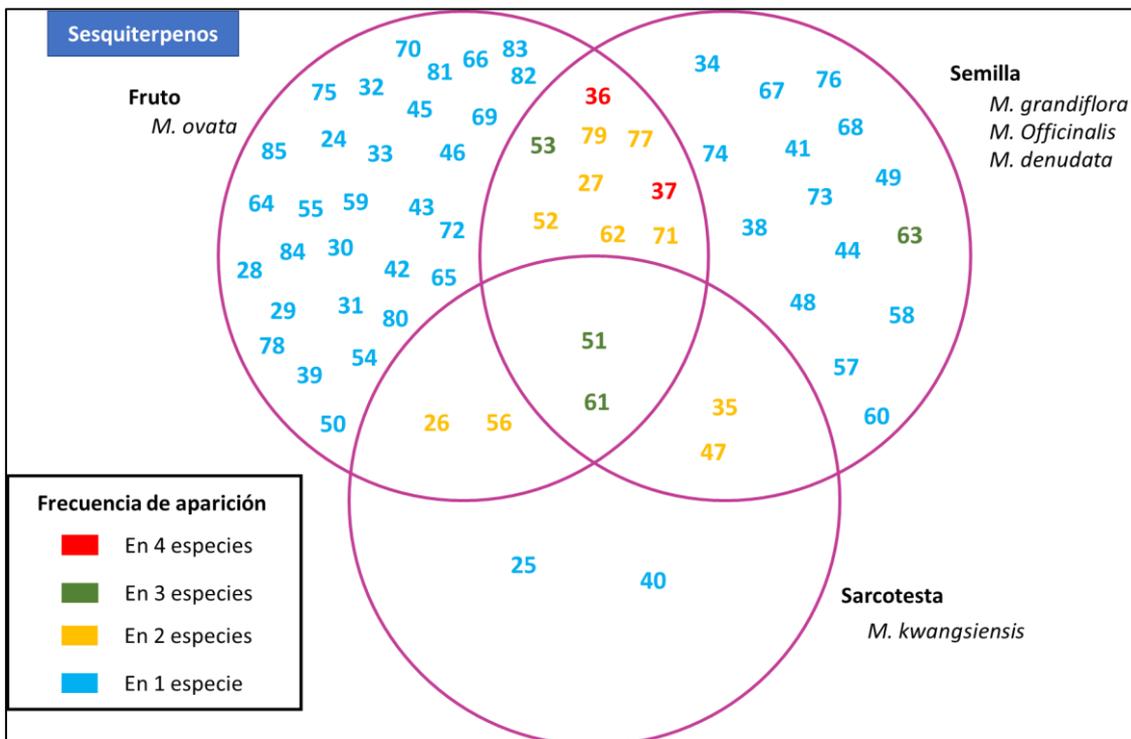


Figura 4.10. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en *Magnolia* spp. El diagrama de Venn muestra la distribución de sesquiterpenos en las estructuras vegetativas dentro de los conjuntos de fruto, semilla y sarcotesta; y su frecuencia de aparición representado por los colores en un total de cinco especies.

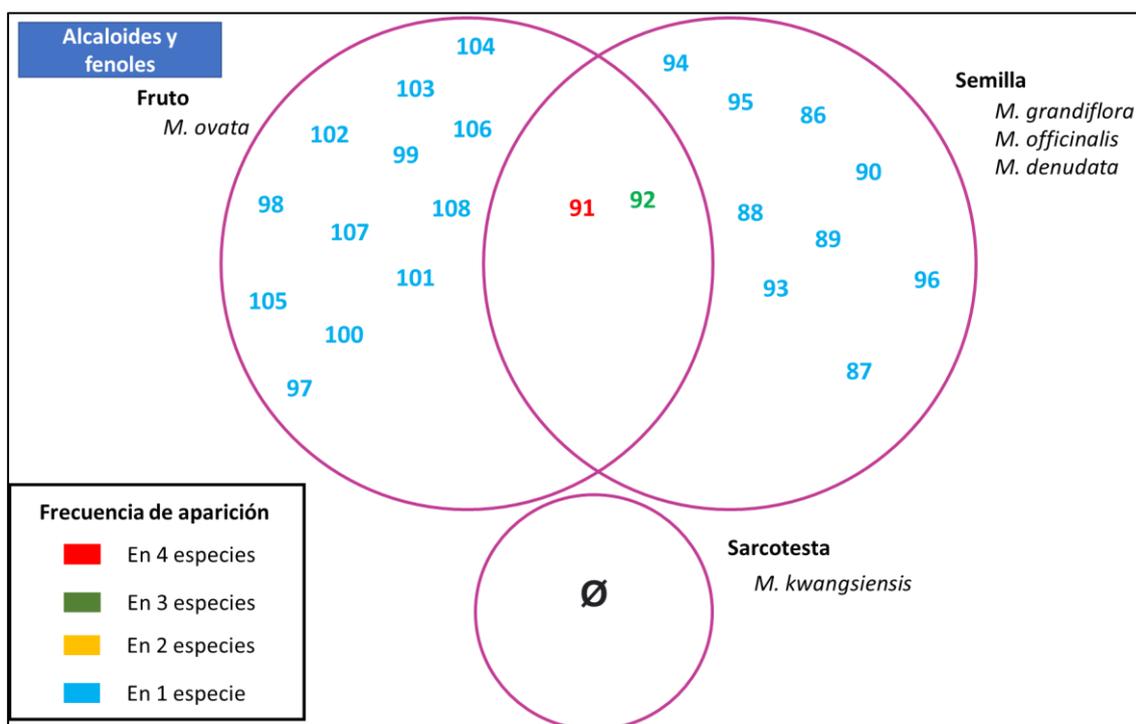


Figura 4.11. Representación gráfica de la aplicación del primer y segundo criterio en *Magnolia* spp. El diagrama de Venn muestra la distribución de fenoles y alcaloides en las estructuras vegetativas dentro de los conjuntos de fruto y semilla. El conjunto sarcotesta no contuvo compuestos fenólicos ni de tipo alcaloides (conjunto vacío \emptyset). La frecuencia de aparición representado por los colores en un total de cinco especies.

Como segundo criterio, de los compuestos aislados de semillas, tres compuestos están presentes en cuatro especies (36, 37, 91), seis en tres especies (8, 12, 20, 53, 63, 92) y ocho en dos especies (3, 27, 52, 77, 79, 62 y 71; Figuras 4.9, 4.10 y 4.11).

Del total de compuestos el 37% (40 de 108) está evaluado al menos en una plaga artrópoda y de los que se seleccionaron en el segundo criterio se encontró evaluado el 90% (27 de 30; Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Potencial biocida de compuestos de *Magnolia* contra artrópodos.

Compuesto	Actividad	Especies	Orden	Estadio	Efectividad DL ₅₀	Efectividad DL ₉₀	Tiempo	Tipo de exposición	Referencia
Sarcotesta									
Presente en 3 especies									
α-pineno (1)	Atrayente de escarabajos	<i>Hylobius abietis</i>	Coleoptera	A	---	DND	--	Fumigación	Nordlander, 1990
	Insecticida	<i>Lycoriella mali</i>	Diptera	A	9,85 µg/mL	DL ₉₅ =14 µg/mL	24 h	Fumigación	Choi, <i>et al</i> 2006
	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	14,08 mg/L aire	DL ₉₀ =28,26 mg/L aire	24 h	Fumigación	Cao, <i>et al</i> 2019
α-Terpineol (14)	Larvicida	<i>Culex pipiens molestus</i>	Diptera	L4to	194 mg/L	DL ₉₀ =216 mg/L	24 h	Contacto	Traboulsi, <i>et al</i> 2002
	Insecticida	<i>Musca domestica</i>	Diptera	A	3,74 µl/L	DL ₉₀ =14,99 µl/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017
Linalool (21)	Insecticida	<i>Sitophilus zeamais</i>	Coleoptera	A	10.46 mg/L	NR	24 h	Fumigación	Zhou, <i>et al</i> 2012
	Larvicida	<i>Culex pipiens molestus</i>	Diptera	L4to	193 mg/L	DL ₉₀ =213 mg/L	24 h	Contacto	Traboulsi, <i>et al</i> 2002
	Insecticida	<i>Lycoriella mali</i>	Diptera	A	21,15 µg/mL	DL ₉₅ =40,50 µg/mL	24 h	Fumigación	Choi, <i>et al</i> 2006
δ-Cadineno (51)	Larvicida	<i>Anopheles Stephensi</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =8.23 µg/mL	NR	24 h	Contacto	Govindarajan, <i>et al</i> 2016
		<i>Ae. Aegypti</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =9.03 µg/mL	NR	24 h	Contacto	Govindarajan, <i>et al</i> 2016

		<i>Culex quinquefasciatus</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =9.86 μg/mL	NR	24 h	Contacto	Govindarajan, <i>et al</i> 2016
β-bisaboleno (61)	No evaluado								No evaluado
Sarcotesta									
Presencia en 2 especies									
Mirceno (5)	Débil actividad insecticida	<i>Sitophilus oryzae</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =27,37 mg/L	NR	24 h	Contacto	Abdelgaleil, <i>et al</i> 2009
	Insecticida	<i>M. domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =4,95 μ/L	LD90=7,16 μ/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017
α-felandreno (7)	Insecticida	<i>Blattella germanica</i>	Blattodea	A	76% de mortalidad a 1 mg/adulto		48 h	Contacto	
	Insecticida	<i>Sitophilus zmais</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =15.61 mg/L	NR	24 h	Fumigación	Liu & Du, 2011
β-felandreno (10)	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =22,56 mg/L	LD90=30,1 4 mg/L aire	24 h	Fumigación	Cao, <i>et al</i> 2019
α-Terpineno (11)	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =23.70 μ/L aire		24 h	Fumigación	Saad, <i>et al</i> 2019
	Insecticida	<i>Musca domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =2,41 μ/L	LD90=4,25 μ/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017
γ-Terpineno (15)	Insecticida	<i>Phthorimaea operculella</i>	Lepidoptera	A	DL ₅₀ =5.98 mg/L aire	LD90=7.74 mg/L aire	24 h	Fumigación	Wu, <i>et al</i> 2020

	Insecticida	<i>Blattella germanica</i>	Blattodea	A	NR	DL ₁₀₀ =20 mg/papel filtro	48 h	Fumigación	Yeom, <i>et al</i> 2012
	Insecticida	<i>Musca domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =2,15 µl/L	DL ₉₀ =4,61 µl/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017
Isoledeno (26)	No evaluado								No evaluado
Guaiol (56)	Insecticida	<i>Musca domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =16.9 µl/L	NR	48 h	Fumigación	Liu, <i>et al</i> 2013
	Larvicida	<i>Plutella xylostella</i>	Lepidoptera	L3er	DL ₅₀ =8.9 mg/larva	NR	12 h	Contacto	Liu, <i>et al</i> 2013
	Larvicida	<i>Mythimna separate</i>	Lepidoptera	L4to	DL ₅₀ = 3.5 µl/L	NR	48 h	Fumigación	Liu, <i>et al</i> 2013
α-Copaeno (35)	No evaluado								No evaluado
β-Selineno (47)	Insecticida	<i>Drosophila melanogaster</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =0,55 µg/adulto	NR	3 h	Aplicación tópica	Chu, <i>et al</i> 2011
Semillas									
Presencia en 4 especies									
α-humuleno (36)	Insecticida	<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptero	L3er	DL ₅₀ =20,86 µg/mL	DL ₉₀ =41.72 µg/mL	24 h	Ingestión	Benelli, <i>et al</i> 2018
	Insecticida	<i>Dorymyrmex thoracicus</i>	Hymenoptera	A	DL ₅₀ =75 µl/L	DL ₉₀ =8,68 µl/L	48 h	Fumigación	de Oliveira, <i>et al</i> 2019b
β-cariofileno (37)	Insecticida	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lepidoptera	L3er	DL ₇₅ =80 ppm	DL ₉₅ =1000 ppm	24 h	Contacto	Cárdenas-Ortega, <i>et al</i> 2015

	Insecticida	<i>Dorymyrmex thoracicus</i>	Hymenoptera	A	DL ₅₀ =1,49 μL/L	DL ₉₀ =9,90 μL/L	48 h	Fumigación	de Oliveira, <i>et al</i> 2019b
	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =36.0 μg/adulto	DL ₉₀ =66.91 μg/adulto	24 h	Contacto	Pang, <i>et al</i> 2020
Honokiol (91)	Larvicida	<i>Aedes albopictus</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =6.13 mg/L	DL ₉₀ =16,52 mg/L	24 h	Contacto	Wang, <i>et al</i> 2019
	Larvicida	<i>Anopheles sinensis</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =7,37 mg/L	DL ₉₀ =31,41 mg/L	24 h	Contacto	Wang, <i>et al</i> 2019
	Insecticida	<i>Nilaparvata lugens</i>	Hemiptera	A	DL ₅₀ =0.324 mM	NR	48 h	Aplicación tópica	Ye, <i>et al</i> 2015
Semillas									
Presencia en 3 especies									
Limoneno (8)	Insecticida	<i>Lasioderma serricorne</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =13.7 mg/L aire	DL ₉₀ =27.8 mg/L aire	24 h	Fumigación	Pang, <i>et al</i> 2021
	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =6,79 mg/L	DL ₉₀ =17,18 mg/L aire	24 h	Fumigación	Cao, <i>et al</i> 2019
	Insecticida	<i>M. domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =3,22 μl/L	DL ₉₀ =4,52 μl/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017
<i>p</i> -cimeno (12)	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =27,01 μl/l aire	NR	24 h	Contacto	Saad, <i>et al</i> 2019
	Insecticida	<i>Blattella germanica</i>	Blattodea	A	68% hembras a 1 mg/adulto	98% machos a 1 mg/mL	48 h	Fumigación	Yeom, <i>et al</i> 2012
	Insecticida	<i>Musca domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =0.77 μl/L	DL ₉₀ =2,48 μl/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017

Acetato de bornil (20)	Insecticida	<i>Liposcelis bostrychophila</i>	Psocoptera	A	DL ₅₀ =1,1 mg/L aire	NR	24h	Fumigación	Feng, <i>et al</i> 2019
	Insecticida	<i>Sitophilus granarius</i>	Coleoptera	A	NE	DL ₁₀₀ =0,1 µg/720mL	7 d	Fumigación	Rozman, 2006
	Insecticida	<i>Musca domestica</i>	Diptera	A	DL ₅₀ = 4.24 µl/L	DL ₉₀ = 7.8 µl/L	24 h	Fumigación	Zhang, <i>et al</i> 2017
Óxido de cariofileno (53)	Larvicida	<i>An. anthropophagus</i>	Diptera	L4to	DL ₅₀ =49.46 mg/L	DL ₉₀ =115,3 8 mg/L	24 h	Contacto	Zhu & Tian, 2013
	Insecticida	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ = 0,00018 mg/cm ³	NR	24 h	Fumigación abierta	Kim, <i>et al</i> 2010
(E)-Nerolidol (63)	Insecticida	<i>Metopolophium dirhodum</i>	Hemiptera	A	DL ₅₀ = 3.5 ml/L	DL ₉₀ =9.ml/L	48 h	Contacto	Benelli, <i>et al</i> 2020
	Insecticida	<i>Spodoptera littoralis</i>	Lepidoptera	A	DL ₅₀ >100ppm	NR	24 h	Vía alimento fresco	Ghoneim, 2020
	Larvicida	<i>Ae. aegypti</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =9,84 mg/L	NR	24 h	Contacto	Wang, <i>et al</i> 2016
Magnolol (92)	Insecticida	<i>Nilaparvata lugens</i>	Hemiptera	A	DL ₅₀ =0.137 mM	NR	48 h	Aplicación tópica	Ye, <i>et al</i> 2015
	Larvicida	<i>Culex pipiens pallens</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =26 mg/L	DL ₉₀ =80,42 mg/L	24 h	Contacto	Wang, <i>et al</i> 2019

**Semillas
Presencia en 2 especies**

β-pineno (3)	Insecticida	<i>Lasioderma serricorne</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =28,3 mg/L aire	DL ₉₀ =52 mg/L aire	24 h	Fumigación	Pang, <i>et al</i> 2021
	Insecticida	<i>Lasioderma serricorne</i>	Coleoptera	A	DL ₅₀ =14,66 mg/L	DL ₉₀ =28,19 mg/L aire	24 h	Fumigación	Cao, <i>et al</i> 2019
	Insecticida	<i>Lycoriella mali</i>	Diptera	A	DL ₅₀ =11,85 μg/mL	DL ₉₅ =21,5 μg/mL	24 h	Fumigación	Choi, <i>et al</i> 2006
α-Trans-Bergamoteno (27)	No evaluado								No evaluado
γ-Cadineno (52)	No evaluado								No evaluado
α-Cubebeno (77)	No evaluado								No evaluado
α-eudesmol (79)	No evaluado								No evaluado
α-Calacoreno (62)	No evaluado								No evaluado
Ar-curcumeno (71)	Larvicida	<i>Anopheles stephensi</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ =10,45 μg/mL	DL ₉₀ =20,52 μg/mL	24 h	Contacto	Alshebly, <i>et al</i> 2017
		<i>Culex quinquefasciatus</i>	Diptera	L3er	DL ₅₀ = 12.24 μg/mL	DL ₉₀ =23.26 μg/mL	24 h	Contacto	

A= adulto

L4to= larva cuarto estadio

L3er= larva tercer estadio
LD= dosis letal
NR= No reportado
DND= Dato no disponible

Los compuestos que se evaluaron en plagas dípteras en estado adulto en orden descendente de efectividades son *p*-cimeno (12; DL₅₀= 0.77 µL/L en 24 h), β-selineno (47; DL₅₀= 0,55 µg/adulto en 3 h), γ-terpineno (15; DL₅₀= 2,15 µL/L en 24 h), α-terpineno (11; DL₅₀= 2,41 µL/L en 24 h), limoneno (8; DL₅₀= 3,22 µL/L en 24 h), α-terpineol (14; DL₅₀= 3,74 µL/L en 24 h), acetato de bornil (20; DL₅₀= 4.24 µL/L en 24 h), mirceno (5; DL₅₀= 4,95 µL/L en 24 h), α-pineno (1; DL₅₀= 9,85 µg/mL en 24 h), β-pineno (3; DL₅₀= 11,85 µg/mL), linalool (21; DL₅₀= 21,15 µg/mL en 24 h), y los evaluados en plagas dípteras en estadios larvarios son honokiol (91; DL₅₀= 6.13 mg/L en 24 h), δ-cadineno (51; DL₅₀= 8.23 µg/mL en 24 h), magnolol (92; DL₅₀= 9,84 mg/L en 24 h), ar-curcumeno (71; DL₅₀= 10,45 µg/mL en 24 h), guaiol (56; DL₅₀= 16.9 µL/L en 48 h) y óxido de cariofileno (53; DL₅₀= 49.46 mg/L en 24 h; Tabla 4.7).

Los compuestos evaluados en lepidóptera en estado adulto en orden descendente de efectividades son γ-terpineno (15; DL₅₀= 5.98 mg/L en 24 h) y (E)-Nerolidol (63; DL₅₀ >100 ppm en 24 h) y en estado larvario son guaiol (56; DL₅₀= 3.5 µL/L en 48 h), α-humuleno (36; DL₅₀= 20,86 µg/mL en 24 h) y β-cariofileno (37; DL₉₅=1000 ppm en 24 h).

Los compuestos evaluados en plagas coleópteras en fase adulto ordenados de manera descendente de acuerdo con sus efectividades son óxido de cariofileno (53; DL₅₀= 0,00018 mg/cm³ en 24 h), limoneno (8; DL₅₀= 6,79 mg/L en 24 h), linalool (21; DL₅₀= 10.46 mg/L en 24 h), α-pineno (1; DL₅₀= 14,08 mg/L en 24 h), β-pineno (3; DL₅₀= 14,66 mg/L en 24 h), α-felandreno (7; DL₅₀= 15.61 mg/L en 24 h), β-felandreno (10; DL₅₀= 22,56 mg/L en 24 h), α-terpineno (11; DL₅₀ = 23.70 µL/L en 24 h), *p*-cimeno (12; DL₅₀= 27,01 µL/L en 24 h), mirceno (5; DL₅₀= 27,37 mg/L), β-cariofileno (37; DL₅₀= 36.0 µg/adulto en 24 h) y acetato de bornil (20; DL₁₀₀= 0,1µg/720 mL en 7 d).

Los compuestos con mayor efectividad insecticida y evaluados en díptero, lepidóptero o coleóptero en estado adulto son el óxido de cariofileno (53), *p*-cimeno (12), β-selineno (47), γ-terpineno (15), α-terpineno (11), limoneno (8), α-terpineol (14), acetato de bornil

(20), mirceno (5), α -pineno (1), linalool (21), β -pineno (3), α -felandreno (7), β -felandreno (10), β -cariofileno (37) y (E)-nerolidol (63).

Para el cuarto criterio, los porcentajes de composición son mostrados en la Tabla 4.7. El estudio de Zheng *et al* (2019) reportó que los monoterpenos en la sarcotesta de *M. kwangsiensis* constituyen el 86.59%. De este porcentaje el β -felandreno (10) se encontró en un 10.96%, el α -terpineno (11) en un 6.37%, el α -felandreno (7) en un 6.16%, el mirceno (5) en un 6.04%, el α -terpineol (14) en un 0,5%, el α -pineno (1) en un 0.33%, el γ -terpineno (15) en un 0.3% y linalool (21) en un 0.23% (Tabla 4.8 y 4.9).

Ali *et al* (2020) encontró que el β -cariofileno (37), *p*-cimeno (12), óxido de cariofileno (53), β -pineno (3), limoneno (8), β -selineno (47) y acetato de bornil (20) están en un 19.6, 5.5, 1.9, 1.2, 1, 0.9, 0.4%, respectivamente en la semilla de *M. grandiflora*. Wang *et al* (2016) reportó que el (E)-nerolidol tiene un porcentaje de composición del 2.18%. El estudio de Barros *et al* (2012) reportó que los alcaloides y compuestos fenólicos se encuentran en un porcentaje menor al 10% en frutos completos de *M. ovata*. Se detallan sus valores de los componentes específicos en el Apéndice 4.3.

De acuerdo con el cuarto criterio resultan 12 compuestos candidatos para su evaluación en *A. ludens*: β -cariofileno (37), β -felandreno (10), α -terpineno (11), α -felandreno (7), mirceno (5), *p*-cimeno (12), óxido de cariofileno (53), (E)-nerolidol (63), β -pineno (3), limoneno (8), β -selineno (47) y α -terpineol (14).

Tabla 4.8. Porcentajes de composición de monoterpenos de *Magnolia*. Los valores están ordenados de mayor a menor.

Monoterpenos									
Fruto completo <i>M. ovata</i>		Semillas <i>M. grandiflora</i>		Semillas <i>M. denudate</i>		Semillas <i>M. officinalis</i>		Sarcotesta <i>M. kwangsiensis</i>	
Compuesto	(%)	Compuesto	(%)	Compuesto	(%)	Compuesto	(%)	Compuesto	(%)
<i>p</i> -cimene	1	Eucaliptol (1,8-cineol)	10,6	Limoneno	1,49	α -pineno	NO	cis- β -ocimeno	56,03
Acetato de bornil	0,1-1,1	β -felandreno	7,3	Terpine-4-ol	1,5	β -pineno	NO	β -felandreno	10,96
Ciclocoloronona	0,6	<i>p</i> -cimeno	5,5	<i>p</i> -cimeno	1,3	Limoneno	NO	α -terpineno	6,37
Linalool (β -linalool)	0,4	β -pineno	1,2	γ -terpineno	0,86	camfeno	NO	α -felandreno	6,16
Geranilacetona	0,2	α -felandreno	1,1	α -terpineol	0,65	α -terpineol	NO	Mirceno (β -mirceno)	6,04
		Limoneno	1	α -terpineno	0,55	Borneol	NO	cis-4-tujanol	0,72
		α -pineno	1			Acetato de bornil	NO	α -terpineol	0,5
		Mirceno (β -mirceno)	0,6			Linalool (β -linalool)	NO	<i>p</i> -menth-2-eno	0,4
		Acetato de bornil	0,4			Óxido de aromadendreno	NO	Alcohol de artemesia	0,33
								α -pineno	0,33
								γ -terpineno	0,3

								terpinoleno	0,25
								Linalool (β-linalool)	0,23
Total	1,1-1,5 %	Total	---	Total	---	Total	---	Total	86,59%

Tabla 4.9. Porcentajes de composición de sesquiterpenos de *Magnolia*. Los valores están ordenados de mayor a menor.

Sesquiterpenos									
Fruto completo <i>M. ovata</i>		Semillas <i>M. grandiflora</i>		Semillas <i>M. denudate</i>		Semillas <i>M. officinalis</i>		Sarcotesta <i>M. kwangsiensis</i>	
Compuesto	(%)	Compuesto	(%)	Compuesto	(%)	Compuesto	(%)	Compuesto	(%)
Espatulanol	2,8-19,3	β-cariofileno	19,36	β-cariofileno	18,89	α-carifileno (α-humuleno)	NO	Cis-β-farneseno	1,22
β-eudesmol	7,6-8	δ-cadineno	4	α-carifileno (α-humuleno)	5,15	γ-selineno (Eudesma-4(14),7(11)-dieno)	NO	δ-cadineno	1,04
trans-β-guaieno	2,6	γ-muuroleno	2,7	(E)-nerolidol	2,18	Óxido de cariofileno	NO	β-bisaboleno	0,7
δ-cadineno	2,6	γ-cadineno	2			(E)-nerolidol	NO	Acoradieno	0,54
Epóxido de humulene II	0,3-3,2	Óxido de cariofileno	1,9			Ar-curcumeno	NO	Isoledeno	0,5
Germacreno	0.4-6,4	Calameneno	1,8			α-eudesmol	NO	α-copaeno	0,35

Isobiciclogermacrenal	0,5-2,3	Sesquisabineno	1,7	Guaiol	0,23
β -cariofileno	2	α -copaeno	1,6		
b-elemeno	2	α -muuroleno	1,6		
Biciclogermacreno	1,8	(E)-nerolidol	1,2		
14-Hidroxi-Z-cariofileno	1,5	α -cariofileno (α -humuleno)	1		
Aristolone	1,4	β -selineno	0,9		
14-Hidroxi-9-epi-E-cariofileno	1,4	α -calacoreno	0,9		
Mustakone	1,2-1,4	(E)- α -Bisaboleno	0,8		
14-Hidroxi- α -muuroleno	1,2	α -ylangeno	0,7		
α -eudesmol	0,9-1,3	α -selineno	0,7		
7(14)-Isodaucen-10-ona (Salvial-4(14)-ene-1-ona)	1,1-1,2	β -farneseno	0,4		
Globulol	1,1	Cadina dieno (cubeneno)	1,4- 0,3		
Óxido de cariofileno	1,1	T-cadinol (τ -cadinol)	0,3		
Guaiol	0,9	α -cadinol	0,3		
Isoledeno	0,1-0,8	T-muurolol	0,1		

α -carifileno humuleno)	(α - 0,9	Cadalenol	0,04- 0,7
Germacreno B	0,8	α -cubebeno	0,04
Acetato kusinol	de 0,7		
α -Acorenol	0,6		
Kusilal	0,6		
Amorfa-4,9-dien- 2-ol	0,5		
Amofha-4,9-dien- 14-al	0,5		
β -selineno	0,5		
Acetato de E- nerolidol	0,4		
Ar-curcumeno	0,4		
β -cubebeno	0,3		
14-Hidroxi- δ - cadineno	0,3		
Carissona	0,3		
β -bisaboleno	0,2-0,3		
α -cubebeno	0,2		
γ -elemeno	0,2		
Propanoato neril	de 0,2		
γ -cadineno	0,2		

α -calacoreno	0,2								
α -cubebeno	0,2								
α -trans- bergamoteno	0,1								
Totales	21,9- 66,6 %	Totales	---	Totales	---	Totales	---	Totales	5%

NO= No obtenido
NR= No reportado

4.5. Rutas metabólicas de compuestos seleccionados

4.5.1. *Argemone*

Se seleccionaron 10 compuestos de *Argemone* spp como candidatos para la evaluación en *A. ludens*, siendo, sanguinarina (6), berberina (9), protopina (5), queleritrina (8), dihidrosanguinarina (1), dihidroqueleritrina (2), copsitina (7), allocriptopina (4), eriodictiol (29) y luteolina (28), por lo tanto, se describen sus vías de biosíntesis a continuación.

4.5.1.1. Alcaloides de isoquinolina

Para llegar a la biosíntesis de benzofenantridinas primero transcurren las reacciones que derivan a los alcaloides de benzolisoquinolinas (BIA). La L-tirosina es el principal precursor de los alcaloides de isoquinolina que dará lugar a la síntesis de la (S)-reticulina, el intermediario central de la ruta (Ziegler & Facchini, 2008). A partir de ahí se sintetiza una gran cantidad de tipos estructurales, entre ellos las benzofenantridinas, protoberberinas y protopinas (Huang, *et al* 2021).

Una vía de ramificación importante comienza con la formación de la (S)-scoulerina por la enzima tipo puente de berberina (BBE; Figura 4.12 y 4.13). La biosíntesis de benzofenantridinas inicia con la formación de dos puentes metilenedioxi (S)-queilantifolina y (S)-estilopina que da origen a protopina (5), dihidrosanguinarina (1), y sanguinarina (6). La formación de copsitina (7) en algunas especies proviene de reacciones espontáneas de (S)-estilopina (Yamada, *et al* 2016).

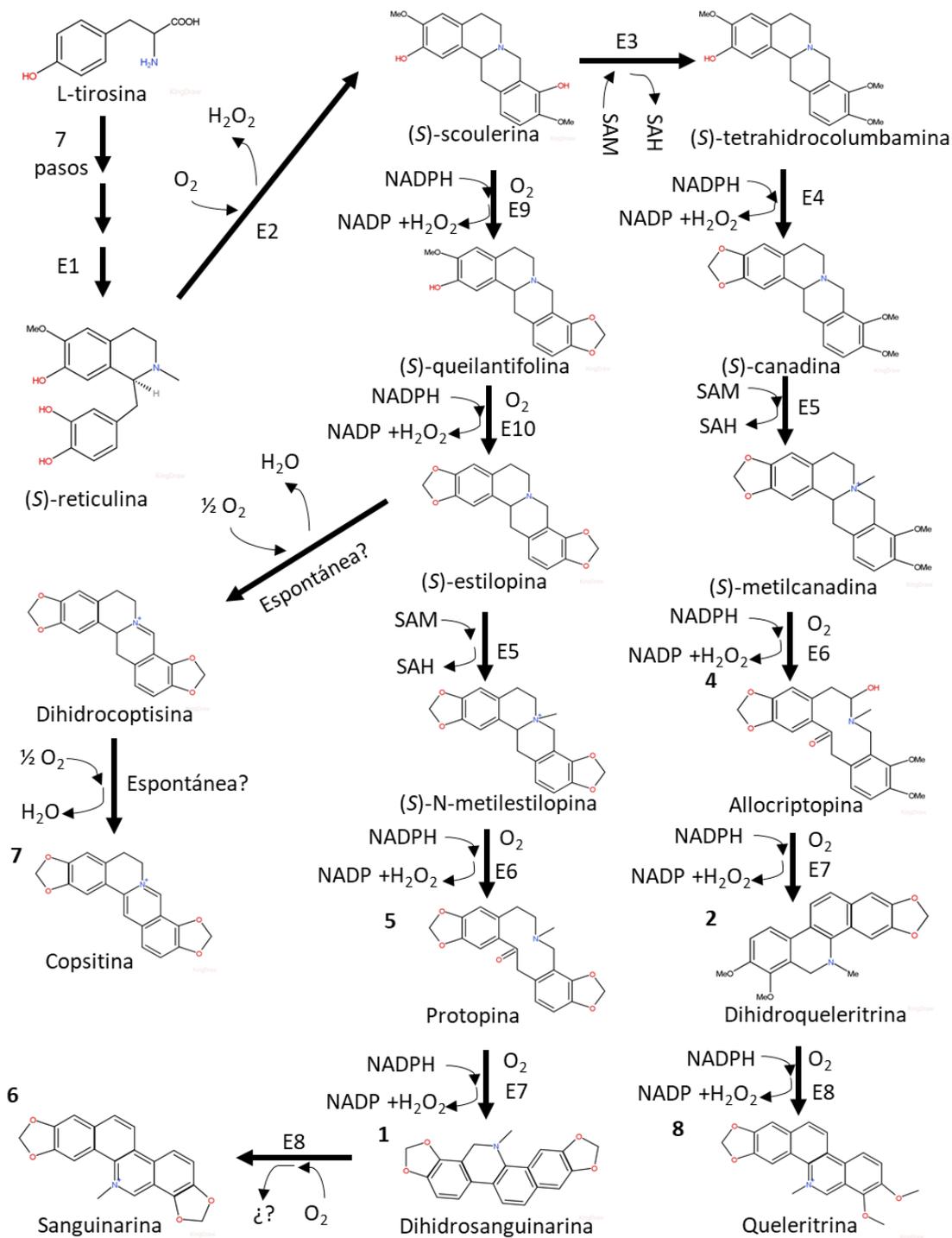


Figura 4.12. Biosíntesis de 6, 9, 5, 7, 8, 4 y 2, compuestos candidatos de *Argemone* (alcaloides de isoquinolina). E1: (RS)-3'-hidroxi-N-metilcoclaurina 4'-O-metiltransferasa; E2: enzima puente de beberine; E3: scoulerina 9-O-metiltransferasa; E4: (S)-canadina sintasa; E5: tetrahydroberberina-cis-N-metiltransferasa; E6: N-metilestilopina-14-hidroxilasa; E7: protopina 6'-hidroxilasa; E8: dihidrobenzofenantridina oxidasa; E9: queilantifolina sintasa; E10: estilopina sintasa. Modificado de Akampurira (2013), Huang *et al* (2021), Sato *et al* (2001), Yahyazadeh *et al* (2018) y Huang *et al* (2019), Bauer & Zenk (1991), O'Keefe & Becher (1994), Tanahashi & Zenk (1990), Beaudoin & Facchini (2013) y Schumacher & Zenk (1988).

Una ramificación alternativa para el metabolismo de (S)-scoulerina involucra la formación de (S)-tetrahydrocolumbamina por la scoulerina 9-O-metiltransferasa cuyos productos dan origen a 4, 2 y 8. De manera paralela, surge la vía de protoberberinas (sales de protoberberina cuaternaria) a partir de (S)-canadina o (S)-tetrahydroberberina que dirige a la formación de berberina (9; Figura 4.13).

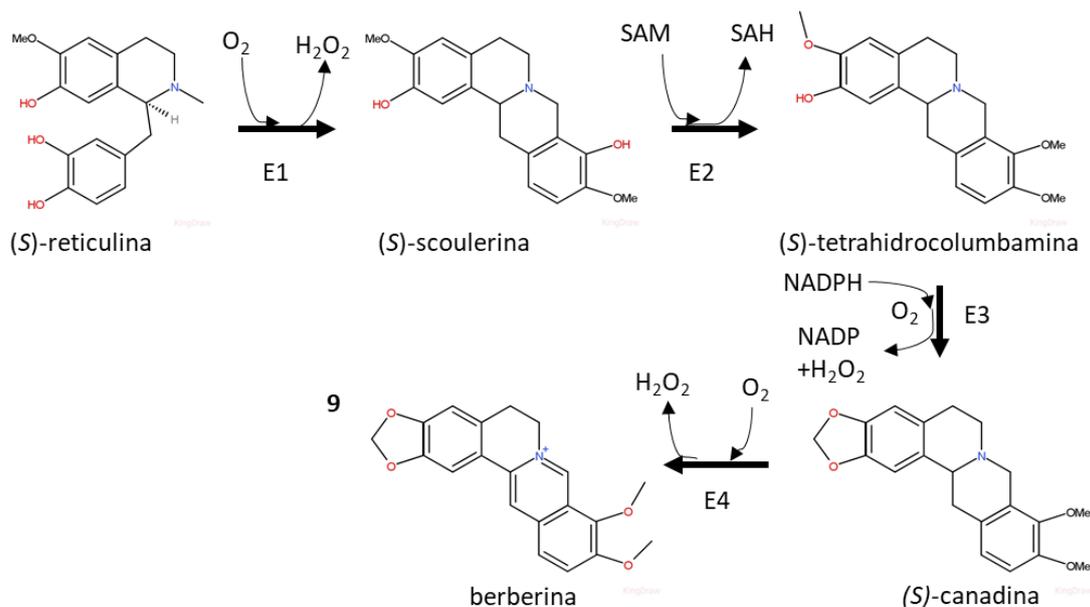


Figura 4.13. Biosíntesis de 9, compuesto candidato de *Argemone* (alcaloides de isoquinolina). E1: enzima tipo puente de beberine; E2: (S)-scoulerina-9-O-metiltransferasa; E3: (S)-canadina sintasa; E4: (S)-tetrahydroprotoberberina oxidasa. Basado en Sato *et al* (2001), Yamada *et al* (2016) y Galanie & Smolke (2015).

La subsecuente N-metilación de (s)-estilopina por la tetrahydroprotoberberina cis-N-metiltransferasa (TMNT) produce (S)-cis-N-metilestilopina la cual es convertida por la (S)-cis-N-metilestilopina 14-hidroxilasa (MSH) a protopina (5). La formación de alcaloides de protoberberina 14-hidroxilados N-metilados es un paso crucial para la síntesis de protopina y subsecuentemente las estructuras de benzofenantridina, en donde la enzima clave es la MSH (Beaudoin & Facchini, 2013).

4.5.1.2. Flavonoides

En los pasos iniciales de la biosíntesis de flavonoides se da la formación de chalconas, moléculas basadas en un esqueleto de 15 carbonos. Para ello, sucede una reacción de condensación entre el *p*-cumaril-CoA y tres moléculas de malonil-CoA, catalizada por la chalcona sintasa (CHS) (Martens & Mithöfer, 2005; Figura 4.14).

La chalcona es ciclada estereoespecíficamente por acción de la chalcona isomerasa (CHI) dando origen a una (2*S*)-flavanona que es el precursor del punto de ramificación de diversos flavonoides (Leonard, *et al* 2005). La flavanona requerida para la formación de 29 es la (2*S*)-naringenina, cuya biosíntesis ocurre en dos reacciones catalizadas por la flavanona 3'5' monooxigenasa y la flavonoide 3' monooxigenasa (Figura 4.14).

Las flavonas sintasa son las enzimas que catalizan la biosíntesis de flavonas a partir de flavanonas (Nakatsuka, *et al* 2005). El precursor de 28 es el eriodictiol y se necesita el trabajo de una flavona sintasa I, la cual requiere 2-oxoglutarato y O₂ en la reacción (Figura 4.14).

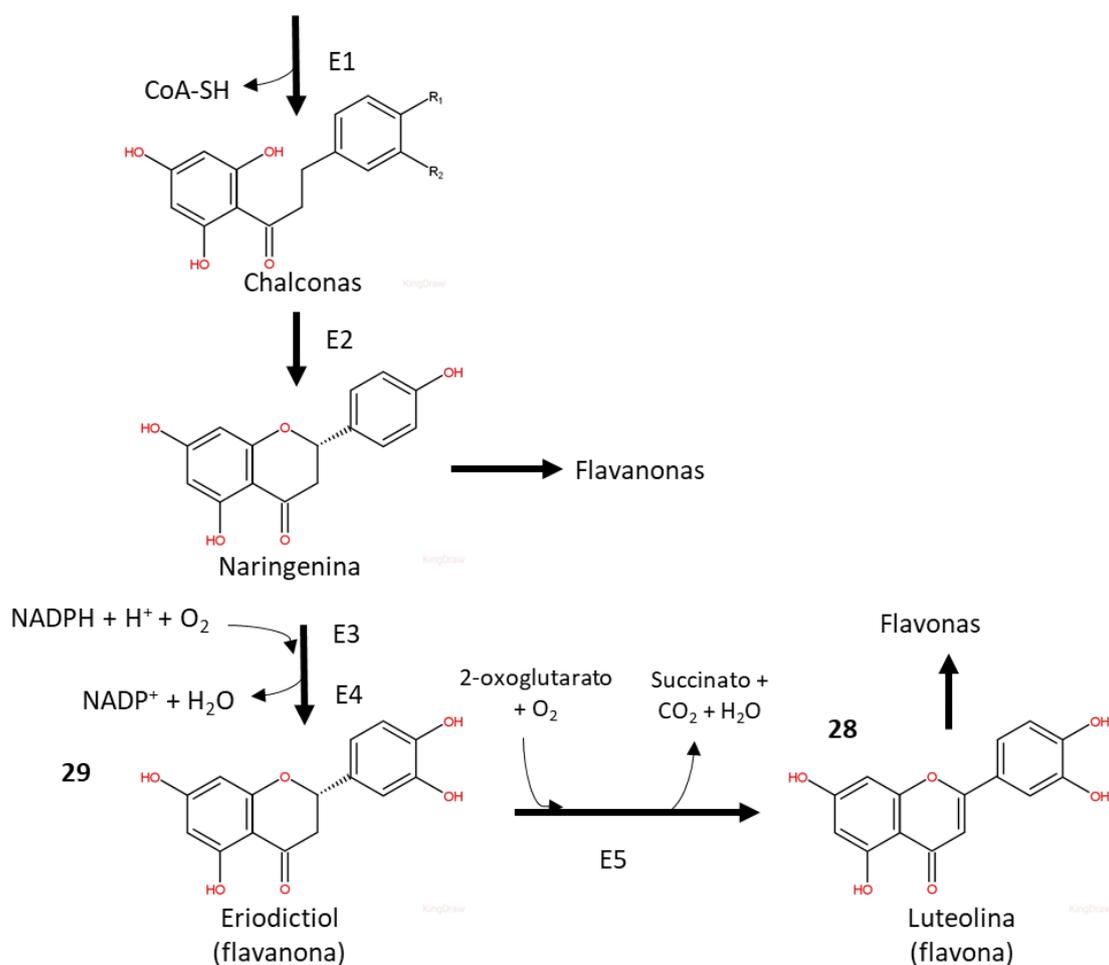


Figura 4.14. Ruta de biosíntesis de compuestos candidatos de *Argemone* (eriodictiol y luteolina). E1: chalcona sintasa, E2: chalcona isomerasa, E3: flavanona 3'5' monooxigenasa, E4: flavonoide 3' monooxigenasa, E5: flavona sintasa I. Adaptado de QMUL (2021c).

4.5.2. *Magnolia*

Los 12 compuestos seleccionados de *Magnolia* spp como candidatos para la evaluación en *A. ludens*, es decir, β -cariofileno (37), β -felandreno (10), α -terpineno (6), α -felandreno (7), mircenol (5), *p*-cimeno (12), óxido de cariofileno (53), (E)-nerolidol (63), β -pineno (3), limoneno (8), β -selineno (47) y α -terpineol (14). A continuación, se describen sus rutas de biosíntesis.

4.5.2.1. Monoterpenos y sesquiterpenos

El DMPP y IPP se condensan para formar todos los trans-isoprenoides difosfato GPP y FPP en reacciones catalizadas por la geranyl difosfato sintasa (GPPS) y farnesil difosfato sintasa (FPPS). El DMPP es ionizado para formar un carbocatión, el cual sufre un ataque nucleofílico por el doble enlace olefínico del IPP seguido por una eliminación H⁺, para formar el GPP (Karunanithi & Zerbe, 2019). El proceso también se repite para formar FPP. Los isoprenoide difosfatos producidos por la GPPS y FPPS pueden ser sustrato de una amplia variedad de terpeno sintasas (Oldfield & Lin, 2012).

Las terpeno sintasas (TPSs) son codificadas por la gran familia de genes TPS, dividida en varias subfamilias. En angiospermas, la subfamilia TPS-a generalmente codifica a las sesquiterpeno sintasas (sesqui-TPSs) y la subfamilia TPS-b primariamente a las monoterpeno sintasas (mono-TPSs), aunque los monoterpenos acíclicos también son sintetizados por sintasas de la subfamilia TPS-g. La familia de genes TPS ha experimentado expansiones específicas dependiendo del linaje lo que ha llevado a una proliferación de enzimas TPSs relacionadas (Booth, *et al* 2020).

Las reacciones catalíticas en la biosíntesis de terpenos están gobernadas por cascadas de rearrreglos carbocationicos y la participación de terpeno sintasas I (TPS I) y terpeno sintasas II (TPS II; Tantillo, 2010). Las TPS I entran en los pasos iniciales de la biosíntesis para ejecutar el corte del enlace éster difosfato de los isoprenoides difosfato producidos y las TPS II se encargan de la protonación (O'Brien, *et al* 2016).

Tras el corte del anión difosfato se genera un carbocatión de geranil (monoterpenos) o farnesil (sesquiterpenos) muy reactivo, que experimenta diversas ciclaciones y reordenamientos, así como cambios de metilo o de hidruros (hydride shifts; Tantillo, 2011, Figura 4.15). Finalmente, se conduce al producto final con la adición de agua para la estabilización del carbocatión, que por lo general es la participación de un terpeno sintasa específica (Vattekkatte, *et al* 2018).

Igualmente, en el caso de la biosíntesis de los monoterpenos 10, 6, 7, 5, 12 (Figura 4.15), 8, 13 y 14 (Figura 4.16) se puede observar que el paso final lo ejecuta un terpeno sintasa de cada compuesto. Y así también, se puede notar para los sesquiterpenos 37, 53 (Figura 4.17), 47 (Figura 4.18) y 63 (Figura 4.19).

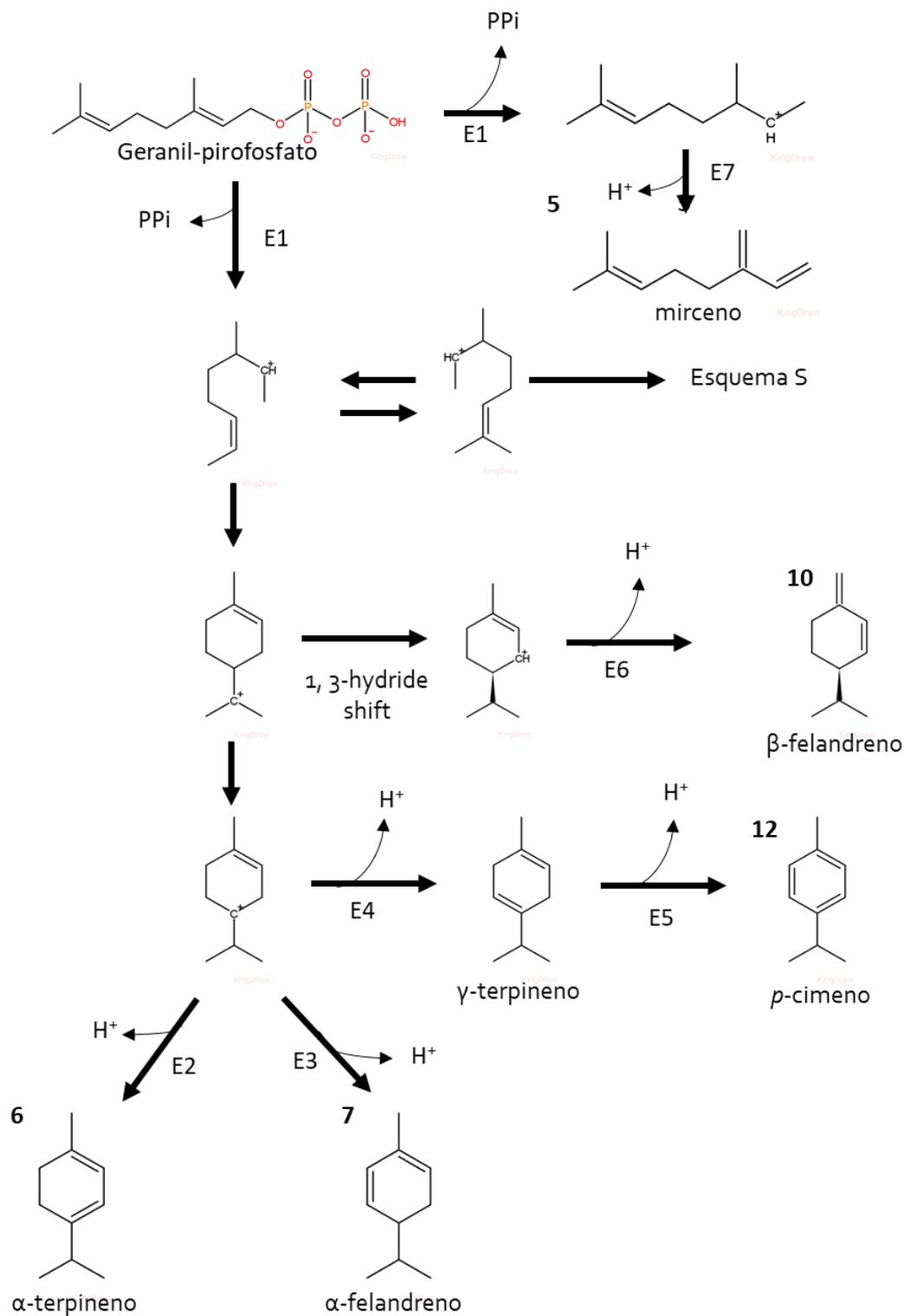


Figura 4.15. Rutas de biosíntesis de los monoterpenos candidatos de *Magnolia*, 10, 6, 7, 5 y 12. E1: geranyl pirofosfatasa sintasa, E2: α -terpineno sintasa, E3: α -felandreno sintasa, E4: γ -terpineno sintasa, E5: *p*-cimeno sintasa, E6: β -felandreno sintasa, E7: mirceno sintasa. Modificado de QMUL (2021b), Vattekkatte *et al* (2018); Gershenzon & Croteau, (1990); Lukas *et al* (2010).

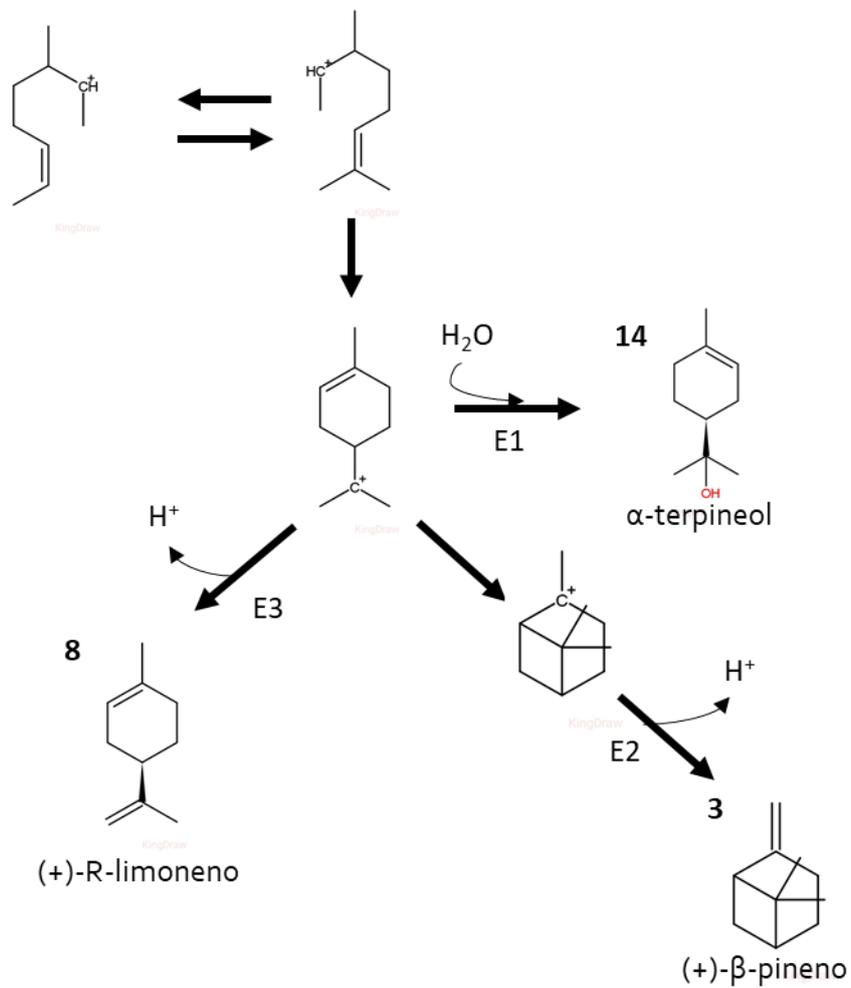


Figura 4.16. Biosíntesis de 8, 3 y 14, monoterpenos candidatos de *Magnolia*. E1: α -terpineol sintasa, E2: (+)- β -pineno sintasa, E3: (+)-R-limoneno sintasa. Modificado de QMUL (2021b), Vattekkatte *et al* (2018); Gershenzon & Croteau (1990); Lukas *et al* (2010).

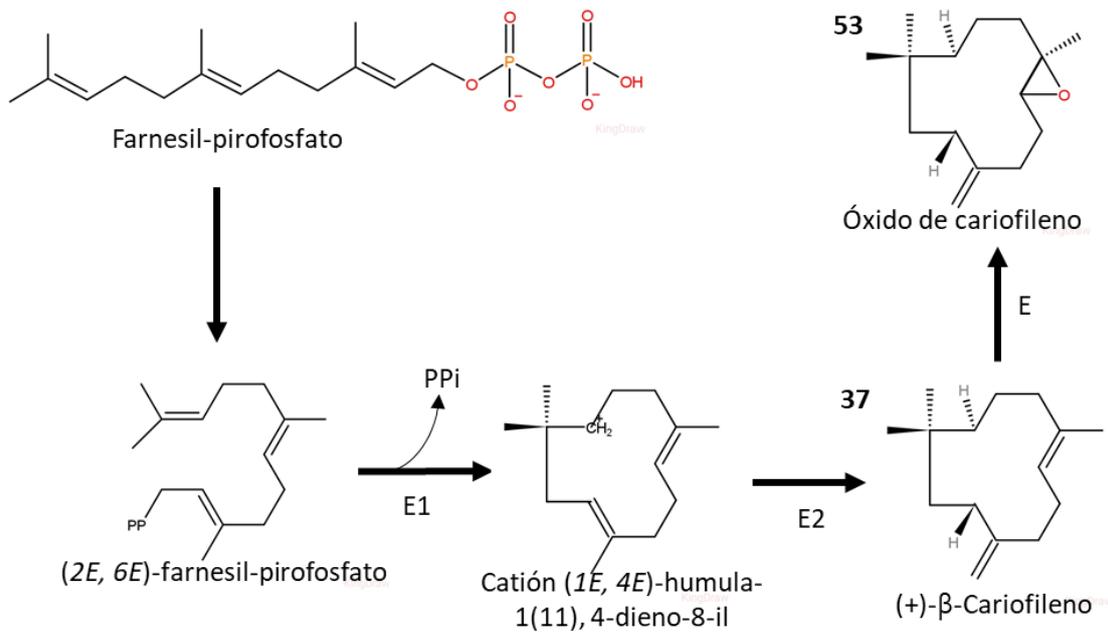


Figura 4.17. Biosíntesis de 37 y 53, sesquiterpenos candidatos de *Magnolia*. E1: farnesil pirofosfatasa sintasa, E3: (+)-β-cariofileno sintasa, E4: óxido de cariofileno sintasa. Modificado de QMUL (2021a), Vattekkatte *et al* (2018); Gershenzon & Croteau (1990); Lukas *et al* (2010).

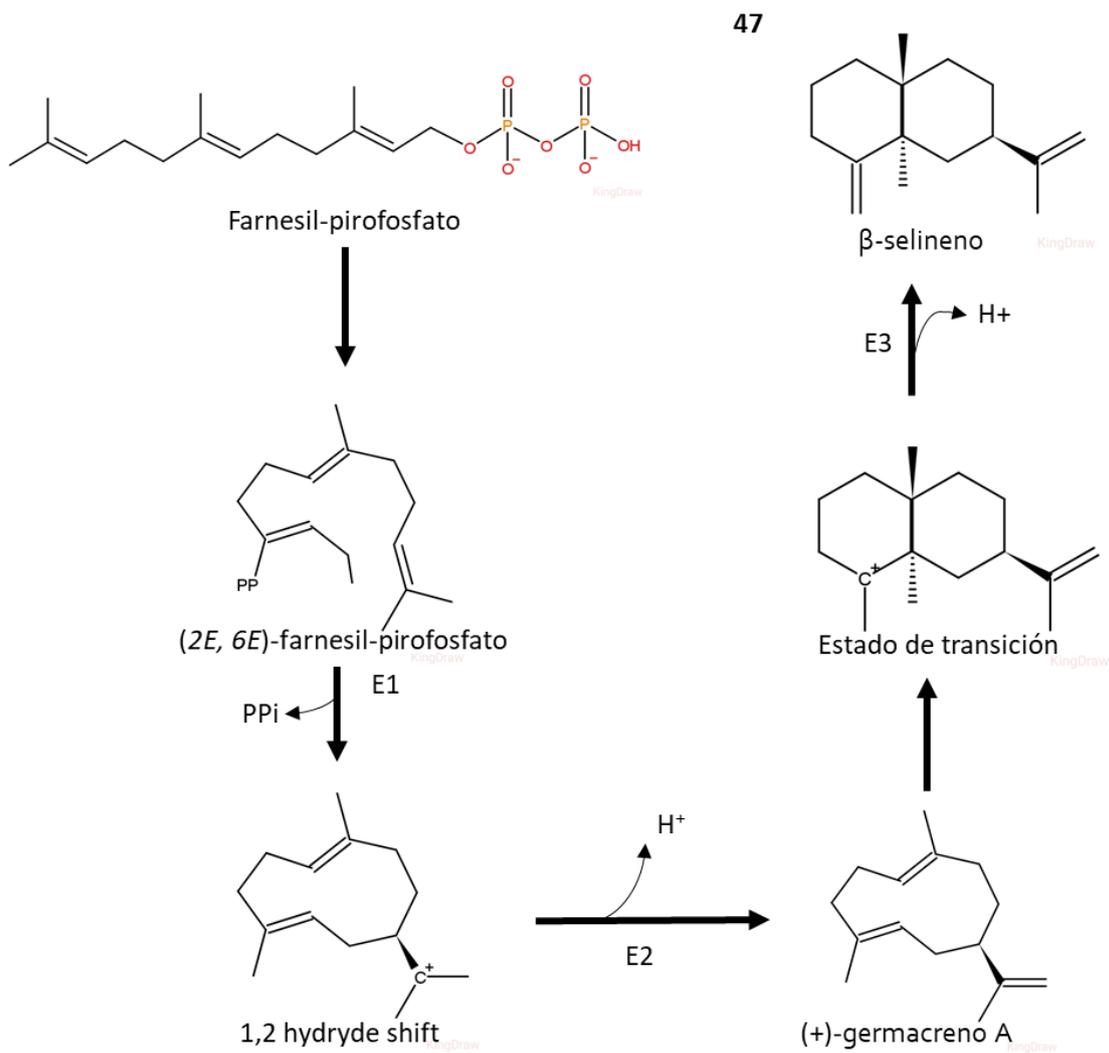


Figura 4.18. Biosíntesis de 47, sesquiterpeno candidato de *Magnolia*. E1: farnesil pirofosfatasa sintasa, E2: (+)-germacreno A sintasa, E3: β-selineno sintasa. Modificado de QMUL (2021a), Vattekkatte *et al* (2018); Gershenzon & Croteau (1990); Lukas *et al* (2010).

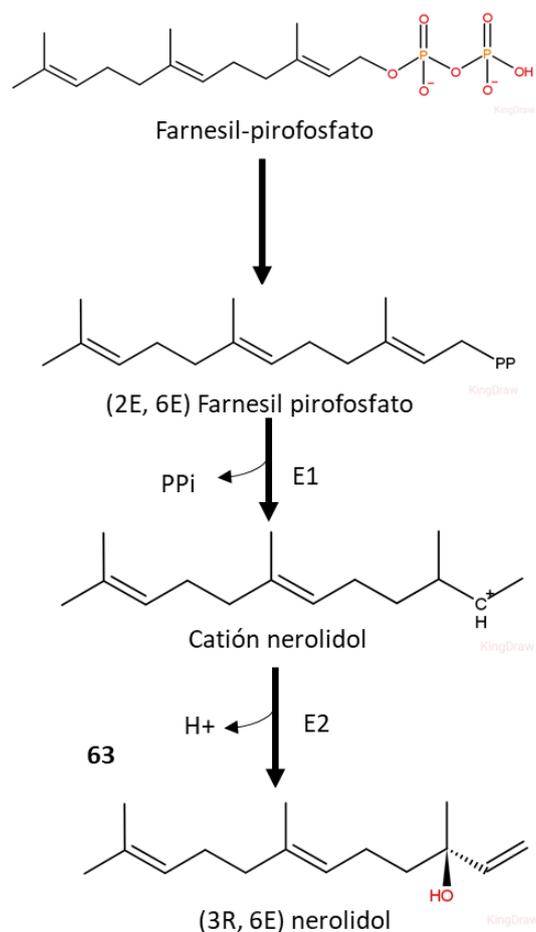


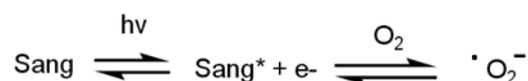
Figura 4.19. Biosíntesis de 63, sesquiterpeno candidato de *Magnolia*. E1: farnesil pirofosfatasa sintasa, E2: (2R, 6E) nerolidol sintasa. Modificado de QMUL (2021a); Vattekkatte *et al* (2018); Gershenzon & Croteau (1990); Lukas *et al* (2010).

4.6. Modos de acción toxicológicos

4.6.1. Argemone

4.6.1.1. Sanguinarina

La sanguinarina es una molécula fototóxica natural que produce singletes de O_2 ($^1\Delta_g$) cuando es irradiada con luz UV cercano (Arnason, *et al* 1997). El evento que conduce a la formación de $\cdot O_2^-$ es la fotoionización (Ecuación 1) de la sanguinarina (Sang) que libera un electrón muy reactivo que causa daño a las estructuras celulares y a las macromoléculas (Tuveson, *et al* 1989). Si la región celular contiene altas concentraciones de oxígeno se verá favorecida la formación de singletes de O_2 (1O_2).



Ecuación 1. Fotoionización de la sanguinarina y producción de singletes de O₂.

La sanguinarina inhibe fuertemente la actividad de la acetiltransferasa de colina (enzima cerebral presente en insectos y vertebrados), y la síntesis del ADN al unirse como un intercalador (Schmeller, *et al* 1997). Los hallazgos del estudio de Zou *et al* (2019) demostraron que la sanguinarina tiene efectos antialimentarios en la larva *Lymantria dispar*, al inhibir la actividad de las enzimas digestivas α -amilasa, lipasa y serín proteasa, y suprimir a un nivel significativo los niveles transcripcionales de ARNm de tales enzimas en el intestino. En otro estudio, donde se analizó el efecto de la sanguinarina en el gusano de seda por ingestión, se encontró que obstaculiza la hidrólisis de trehalosa, al reducir la actividad de la trehalasa (THL) y su transcripción. Esto conduce a la inhibición del metabolismo energético y por consecuencia la letalidad en la larva, ya que la trehalosa es el azúcar que mayormente circula en la hemolinfa (Li, *et al* 2019).

4.6.1.2. Berberina

Es un compuesto con actividad fotodinámica bajo la exposición de luz UV. Es capaz de generar singletes de O₂ (¹O₂) altamente tóxicos que producen daños citogenéticos. Se encontró que su actividad fototóxica provoca aberraciones cromosómicas en células de hámster chino (Philogene, *et al* 1984). Aunado a ello, la berberina se une fuertemente como intercalador al ADN interrumpiendo la replicación, evento correlacionado con los efectos inhibitorios en bacterias, insectos y vertebrados, actúa como inhibidor de la actividad de la polimerasa I, correlacionado con la inhibición del crecimiento bacteriano, y de la síntesis de proteínas correlacionado con la inhibición del crecimiento radicular (Wink, 1998b; Bhadra, *et al* 2008).

La berberina inhibe la actividad de neuroreceptores como el adrenérgico alfa-2, nicotinérgico (nAChR), muscarinérgico y de serotonina 2 (5-HT₂), que son importantes en la transducción de señales en insectos y vertebrados (Schmeller, *et al* 1997). Un estudio identificó a la ANT (Adenosina Nucleótido Translocasa) de mitocondrias hepáticas como un objetivo importante de la berberina, causando una disminución en la producción de energía y que también podría inducir la transición de la permeabilidad de la mitocondria, un importante inductor apoptótico (Pereira, *et al* 2008).

4.6.1.3. Protopina

Ensayos *in vivo* e *in vitro* demostraron que la protopina inhibió la actividad de la acetilcolinesterasa y la fosfatasa alcalina (enzima que elimina los grupos fosfatos de las moléculas y lo provee para la síntesis de ATP) del tejido nervioso del caracol *Lymnaea acuminata* (Singh & Singh, 1999). Posteriormente, se reportó que los principales efectos causados por la protopina es una significativa reducción en su fecundidad, incubabilidad y la supervivencia de caracoles jóvenes (Singh & Singh, 2005).

4.6.1.4. Queleritrina

Se ha evaluado su potencial como molécula biocida en diferentes organismos, pero se carece de estudios acerca de los modos de acción en insectos (Matsushashi, *et al* 2002; He, *et al* 2018). Los resultados del estudio de Basu (2013) demostraron que la queleritrina posee alta afinidad de unión al ADN de timo de ternero de manera intercalada ocasionando la perturbación significativa de la conformación de la doble hélice. En otro estudio se probaron los efectos tóxicos de la queleritrina en la cianobacteria *Microcystis aeruginosa* y se encontró que el compuesto inhibe el flujo de energía proveído por el fotosistema II al atrapar los electrones suministrados por el centro de reacción (Liu, *et al* 2015). Otro estudio reportó que la toxicidad de la queleritrina en *Ustilaginoidea virens* provocó ruptura del micelio y adelgazamiento de la pared celular, sugiriendo que la queleritrina ataca a la pared celular de los hongos (Wei, *et al* 2020).

4.6.1.5. Dihidrosanguinarina

La bibliografía reporta que la sanguinarina es transformada a dihidrosanguinarina en el tracto digestivo de los vertebrados, y se le atribuye como un primer paso de la destoxicación *in vivo* (Psotová, *et al* 2006). En cultivos celulares de *Eschscholzia californica* también se ha descrito un mecanismo de destoxicación que involucra la conversión enzimática de sanguinarina a dihidrosanguinarina, siendo esta última una forma reducida menos tóxica (Weiss, *et al* 2006). Aunado a ello, un estudio demostró que la dihidrosanguinarina no tiene ningún efecto en la bomba ATPasa de Na⁺/K⁺, mientras que la sanguinarina se encontró como la responsable de su inhibición, lo cual reconfirma que la dihidrosanguinarina es un metabolito menos tóxico (Janovská, *et al* 2010).

4.6.1.6. Dihidroqueleritrina

Se ha reportado que la dihidroqueleritrina posee actividad contra diversos organismos como bacterias, insectos y protozoarios, sin embargo, en tales estudios falta la descripción de los mecanismos de acción de la toxicidad (Navarro & Delgado, 1999; Feng, *et al* 2011; Yao, *et al* 2011; Fotie, *et al* 2007). Lin *et al* (2020) investigaron la biotransformación de queleritrina en microsomas de hígado de ratón y los análisis mostraron que esta es convertida a dihidroqueleritrina. Los resultados proveen importante evidencia acerca del metabolismo de la queleritrina en células de mamíferos y por lo tanto promueve a indagar si se trata de un mecanismo de detoxificación.

4.6.1.7. Copsitina

Se han descrito diversos modos de acción de la copsitina en microorganismos, pero esto no abarca a los insectos o invertebrados. Se demostró que la copsitina actuó como molécula inhibitoria de la colagenasa de *Clostridium histolyticum*, metaloproteinasa implicada en la degradación de las matrices extracelulares de las células animales, debido a su capacidad para digerir el colágeno (Tanaka, *et al* 1991). La copsitina inhibió la actividad y maduración de la ureasa de *Helicobacter pylori*, enzima que le permite a las bacterias patógenas neutralizar los medios ácidos del tracto gastrointestinal (Li, *et al* 2018a). Otro estudio encontró que la copsitina es un potente inhibidor de la dihidroorotato deshidrogenasa de *Plasmodium falciparum*, la cual es capaz de proveer una fuente exclusiva de pirimidinas para la supervivencia de los nemátodos (Lang, *et al* 2018).

4.6.1.8. Allocriptopina

Existe evidencia que la allocriptopina es muy tóxica contra insectos como *Pieris rapae*, *Tribolium castaneum* y *Culex auianguiefasciatus*, desafortunadamente, los reportes no brindan información acerca de los mecanismos o modos de acción (Zhang, *et al* 2009a). Aunque se encontró que la allocriptopina ejerció actividad inhibitoria en las enzimas CYP 3A4, CYP 2CP, CYP 2C19 y CYP 2D6, enzimas pertenecientes a la superfamilia del citocromo P450, claves en metabolismo de xenobióticos que se encuentran ampliamente distribuidas en los tres dominios (Manda, *et al* 2016).

4.6.1.9 Eriodictiol

Existe amplia información acerca de sus propiedades terapéuticas y farmacológicas del Eriodictiol, en efecto, es considerado uno de los flavonoides con mayor actividad farmacológica (Deng, *et al* 2020). Sin embargo, se carece de estudios que reporten los modos de acción toxicológicos del eridictiol en insectos u otros organismos. El eriodictiol es una molécula muy explorada en el ámbito médico y posiblemente no surge mucho interés acerca de cómo efectúa su toxicidad en los organismos.

4.6.1.10. Luteolina

Los estudios que reportan acerca de los modos y mecanismos de acción de la luteolina son pocos. Un estudio encontró que la luteolina inhibe la actividad de la fenoloxidasas de la larva de *Spodoptera exigua* en ensayos *in vitro* de forma reversible y competitiva. La inhibición de la fenoloxidasas por la luteolina perturba el crecimiento de los insectos, ya que dicha enzima tiene un rol importante en los procesos de desarrollo (Wang, *et al* 2010).

4.6.2. Magnolia

4.6.2.1. β -felandreno

Un análisis *in vitro* encontró que el β -felandreno tuvo actividad inhibitoria contra la actividad de la acetilcolinesterasa (Bonesi, *et al* 2010). Asimismo, otro estudio confirmó dicha actividad inhibitoria en la acetilcolinesterasa de la cucaracha germánica *Blattella germanica* (Yeom, *et al* 2015). Además, para saber acerca de sus efectos tóxicos, un estudio demostró que el β -felandreno genera efectos genotóxicos observándose ruptura de cadenas de DNA y mutaciones en células de pulmón de hámster (Cheng, *et al* 2017).

4.6.2.2. α -terpineno

Un estudio *in vitro* demostró que el α -terpineno ejerció actividad inhibitoria sobre la adenosín trifosfatasa (ATPasa), enzima muy importante encargada de catalizar la descomposición de ATP en ADP y fosfato inorgánico, y sobre la acetilcolinesterasa, involucrada en la hidrólisis de la acetilcolina, ambas enzimas presentes en insectos (Saad,

et al 2018). De igual forma, otro estudio en condiciones *in vitro* confirma tales efectos inhibitorios en la ATP sintasa aislada de *E. coli* (Issa, *et al* 2019).

Un estudio reportó efectos alelopáticos del α -terpineno. El contacto del α -terpineno en cultivos celulares de *Zea mays* generó una acumulación de especies reactivas de oxígeno causando la peroxidación de lípidos de membrana y aumentando la permeabilidad, induciendo la vía apoptótica dependiente de caspasas (Li, *et al* 2018d).

4.6.2.3. α -felandreno

La actividad insecticida del α -felandreno en la larva de *Lucilia cuprina* provocó daño en diferentes órganos. Los análisis histológicos mostraron alteraciones severas en la cutícula, cerebro e intestino, sugiriendo que posiblemente afecta varios sitios objetivos. Además, los autores sugieren un mecanismo de acción neurotóxico (Chaaban, *et al* 2018).

4.6.2.4. β -mirceno

Un estudio realizado en condiciones *in vitro* encontró que el mirceno ejerce inhibición competitiva en la monooxigenasa CYPB4501A1, una enzima microsomal involucrada en la desactivación de compuestos genotóxicos, lo que sugiere que este metabolito puede interferir en la transformación de xenobióticos, es decir, la interacción de dichos compuestos con la CYPB4501A1 es menos probable y las condiciones se vuelven más letales (De-Oliveira, *et al* 1997).

4.6.2.5. *p*-cimeno

Un estudio *in vitro* demostró que el *p*-cimeno tuvo actividad inhibitoria en la adenosín trifosfatasa o ATPasa (Saad, *et al* 2018). Al evaluar los efectos tóxicos de *p*-cimeno en mitocondrias de células animales, se observó que este induce una fuga de protones por la región F0 de la ATP sintasa y la ruptura de la membrana. Estos datos sugirieron que la mitocondria es un sitio objetivo para los mecanismos de acción tóxicos de *p*-cimeno (Custódio, *et al* 2011). Otro estudio reportó que los efectos aleloquímicos del *p*-cimeno en células de *Zea mays* causan estrés oxidativo despertando la ruta dependiente de caspasas, la cual conlleva a apoptosis (Li, *et al* 2018d).

4.6.2.6. β -pineno

En un estudio *in vitro* el β -pineno tuvo efectos inhibitorios en la ATP sintasa aislada de *E. coli*, (Issa, *et al* 2019). Otro estudio encontró que el β -pineno tuvo actividad inhibitoria en la acetilcolinesterasa aislada de *Aedes albopictus* (Seo, *et al* 2015). El β -pineno tuvo actividad repelente en *Tribolium castaneum* el cual indujo cambios en la expresión de proteínas involucradas en la transmisión neuronal, sin embargo, no se identificaron los sitios donde ejercía cierto efecto repelente (Pajaro-Castro, *et al* 2017). La actividad antifúngica del β -pineno en el crecimiento de *Candida albicans* inhibe la síntesis de ergosterol y las simulaciones de acoplamiento molecular señalan que el β -pineno es capaz de unirse a la delta-14-esterol reductasa de *Candida albicans*, enzima clave involucrada en la síntesis de esteroides, los cuales influyen en la fluidez de la membrana (de Macêdo Andrade, *et al* 2018).

4.6.2.7. Limoneno

Se ha reportado que el d-limoneno ejerce efectos neurotóxicos en la lombriz roja californiana *Eisenia foetida*, sin embargo, los mecanismos de cómo actúa no fueron estudiados (Karr, *et al* 1990). Más adelante se investigaron los modos de acción del d-limoneno en enzimas clave del tejido nervio del caracol *Lymnaea acuminata* y se encontró que el limoneno causó la inhibición competitiva de la fosfatasa alcalina y la acetilcolinesterasa tanto en ensayos *in vivo* como en *in vitro* (Kumar, *et al* 2009). Igualmente, otro estudio *in vitro* volvió a confirmar que el limoneno tiene actividad anti-acetilcolinesterasa (Zarrad, *et al* 2015). Del mismo modo, el d-limoneno fue evaluado en la bacteria *Listeria monocytogenes*. El estudio reportó que afecta la respiración y el metabolismo de la bacteria al inhibir la función del complejo de la cadena respiratoria y la ATPasa (Han, *et al* 2020).

4.6.2.8. α -terpineol

Un estudio evaluó la capacidad de bloque del α -terpineol sobre los receptores de octopamina (AO) de cucarachas americanas y los resultados demostraron que el α -terpineol induce una disminución en la afinidad de unión de la octopamina a sus receptores en una dosis dependiente. Donde los signos de toxicidad fueron cambios en los latidos del corazón y en los niveles AMPc en el sistema nervioso (Enan, 2001). El estudio de Oyedemi, (2009) reportó que el α -pineno provoca daños severos en la pared y

membrana celular de *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*.

4.6.2.9. β -cariofileno

Liu (2010) demostró que el β -cariofileno tiene efectos tóxicos en *Aphis gossypii* causando severos efectos en la fertilidad y la producción de mielada, y se encontró que inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa, la polifenol oxidasa, la carboxilesterasa y la glutatión S-transferasa tanto en ensayo *in vivo* como *in vitro*. Otro modo de acción es a través de la perturbación de la membrana celular, ya que la actividad antibacteriana del β -cariofileno en *Bacillus subtilis* causó un aumento en la permeabilidad y pérdida de su integridad conduciendo a la muerte celular (Moo, *et al* 2020).

4.6.2.10. Óxido de cariofileno

Se ha reportado que el efecto tóxico del óxido de cariofileno en mitocondrias de corazón bovino, interfiere en la cadena transportadora de electrones al inhibir a la NADH:ubiquinona (UQ) oxidorreductasa del complejo I (Monzote, *et al* 2009). Análisis *in vitro* demuestran que el óxido de cariofileno afecta la actividad del citocromo CYP3A4, enzima importante en el catabolismo de drogas (Špičáková, *et al* 2019). Adicionalmente, otro estudio *in vitro* encontró que el óxido de cariofileno inhibe fuertemente la actividad del citocromo CYP3A (Nguyen, *et al* 2017).

4.6.2.11. (E)-nerolidol

Es un sesquiterpeno de amplio uso y con múltiples propiedades biológicas (Chan, *et al* 2016). Bioensayos de contacto del nerolidol en la larva de *Spodoptera littoralis* tuvieron un efecto inhibitorio en la eficiencia de oviposición y causó perturbación en la capacidad reproductiva, pero los mecanismos son desconocidos (Ghoneim, 2020). Ensayos *in vitro* demuestran que el (E)-nerolidol causa una alta inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa (Al-Nagar, *et al* 2019).

Análisis *in vitro* e *in silico* demuestran que el (e)-nerolidol afecta la actividad del citocromo CYP3A4, enzima importante en el catabolismo de drogas (Špičáková, *et al* 2019). Estudios *in vitro* demuestran que el efecto inhibitorio del (E)-nerolidol en el parásito *Leishmania amazonensis* se debe a notables interacciones con la membrana celular y que

este altera su integridad (Alonso, *et al* 2019). Otro estudio también sugiere la membrana celular como un organelo objetivo, ya que demostró que la toxicidad del (E)-nerolidol ocasiona la fuga de iones K⁺ en *Staphylococcus aureus* (Inoue, *et al* 2004).

4.6.2.12. β -selineno

Es un sesquiterpeno presente en muchos aceites esenciales, los cuales han mostrados actividad insecticida, sin embargo, a la fecha los estudios de su toxicidad individual son escasos y acerca de sus posibles modos de acción aún no están descritos (Chu, *et al* 2011; Mesquita, *et al* 2020).

4.6.3. Predicción de modos de acción

El análisis *in silico* asignó a la sanguinarina, berberina, cospitina y queleritrina (este último moderadamente) como moduladores de canales de iones (0.50, 0.71, 0.80 y 0.42 respectivamente; Tabla 4.10) y como inhibidores enzimáticos (0.54, 0.82, 0.89 y 0.49 respectivamente). La dihidrosanguinarina mostró únicamente baja afinidad como inhibidor de cinasas (0.23). La protopina, dihidroqueleritrina, y allocriptopina no mostraron aptitud activa por ninguno de los cinco objetivos ensayados, puesto que los valores del puntaje no fueron significativos. El eriodictiol podría actuar como un ligando de receptores nucleares, como así lo mostraron los resultados *in silico* (Tabla 4.10). También se predice que podría actuar débilmente como inhibidor enzimático. Interesantemente, el análisis *in silico* mostró que la luteolina puede actuar moderadamente sobre ligandos de receptores nucleares (0.39) y como inhibidor de cinasas (0.26) e inhibidor enzimático (0.28).

Los resultados *in silico* del β -felandreno, α -terpineno, α -felandreno, β -mirceno, *p*-cimeno, β -pineno, limoneno y α -terpineol predicen que poseen muy baja afinidad a los cinco objetivos ensayados. El mayor puntaje de actividad del β -cariofileno predice que puede actuar como un modulador de canales de iones. Los resultados *in silico* predicen que el óxido de cariofileno tiene potencial para actuar como ligando de receptores nucleares (0.62) y como inhibidor enzimático (0.57). Los resultados del ensayo *in silico* para el (E)-nerolidol predicen que puede funcionar moderadamente como modulador de canales de iones (0.21), ligando de receptores nucleares (0.42) e inhibidor enzimático

(0.39). Con respecto al análisis *in silico* del β -selineno, se predice que puede actuar regularmente como inhibidor enzimático (0.29; Tabla 4.10).

Tabla 4.10. Predicción del modo de acción de compuestos candidatos.

Compuesto / Clases de objetivos	Modo de acción / Score*					
	Ligando de GPCR	Modulador de canales de iones	Inhibidor de cinasas	Ligando de receptores nucleares	Inhibidor de proteasas	Inhibidor enzimático
<i>Argemone</i>						
Sanguinarina (6)	-0.03	0.50	0.17	-0.76	-0.14	0.54
Berberina (9)	-0.11	0.71	-0.27	-0.78	-0.35	0.82
Protopina (5)	0.18	-0.04	-0.26	-0.23	-0.03	0.04
Queleritrina (8)	-0.07	0.42	0.10	-0.73	-0.17	0.49
Dihidrosanguinarina (1)	0.19	0.09	0.23	0.16	-0.00	0.16
Dihidroqueleritrina (2)	0.09	-0.02	0.16	0.04	-0.11	0.08
Copsitina (7)	0.06	0.80	-0.22	-0.82	-0.33	0.89
Allocriptopina (4)	0.09	-0.13	-0.33	-0.13	-0.14	-0.03
Eriodictiol (29)	0.07	-0.20	-0.22	0.46	-0.09	0.21
Luteolina (28)	-0.02	-0.07	0.26	0.39	-0.22	0.28
<i>Magnolia</i>						
β -cariofileno (37)	-0.34	0.28	-0.68	0.13	-0.60	0.19
β -felandreno (10)	-0.99	-0.48	-1.55	-0.28	-1.31	-0.27
α -terpineno (11)	-0.96	-0.24	-1.29	-0.24	-1.52	-0.11
α -felandreno (7)	-1.00	-0.40	-1.40	-0.32	-1.38	-0.15
B-mirceno (5)	-1.11	-0.33	-1.51	-0.45	-1.31	-0.07
<i>p</i> -cimeno (12)	-1.18	-0.61	-1.40	-1.21	-1.42	-0.78
óxido de cariofileno (53)	-0.08	0.14	-0.86	0.62	0.00	0.57
(E)-nerolidol (63)	-0.17	0.21	-0.64	0.42	-0.43	0.39
β -pineno (3)	-0.53	-0.32	-1.45	-0.50	-0.80	-0.34
limoneno (8)	-0.91	-0.27	-2.01	-0.34	-1.38	-0.21
β -selineno (47)	-0.26	0.18	-0.94	0.35	-0.48	0.29
α -terpineol (14)	-0.51	0.15	-1.45	-0.02	-0.78	0.14

*Expresa el puntaje de similitud estructural del compuesto. El valor del score oscila entre -2.00 a 2.00. Entre más positivo el valor del score es más alta la probabilidad de que el compuesto en particular sea activo en los diferentes objetivos. <https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

4.7. Propuesta de protocolo de investigación

4.7.1. Proceso de análisis de muestras

4.7.1.1. Colección de material vegetal

Colectar frutos de *M. vovidesii* en el municipio Ixhuacán de los Reyes, Veracruz (longitud de 97.059592 y una latitud de 19.370791) durante el mes de agosto a una altitud de 1570 m s.n.m. Colectar semillas de *A. ochroleuca* en el municipio de León, Guanajuato entre los meses de enero hasta abril, con las coordenadas 21.0318719 y -101.6382783 de latitud y longitud, respectivamente, a 1796 m s.n.m.

En el caso de *M. vovidesii*, dejar emerger las semillas de los frutos en un espacio ventilado y retirarlas del polifolículo. Después retirar manualmente la sarcotesta de las semillas y colocarla dentro de bolsas de papel. De igual manera, guardar las semillas de *A. ochroleuca* en bolsas de papel.

Introducir las bolsas con la sarcotesta de *M. vovidesii* y las semillas de *A. ochroleuca* a un proceso de secado en un horno a 40°C por aproximadamente de 3 a 4 días. Una vez secas las semillas y la sarcotesta sacarlas del horno, molerlas por separado con ayuda de un mortero hasta pulverizar y resguardar en frascos esterilizados, para posteriores experimentos, en un cuarto seco a temperatura ambiente.

4.7.1.2. Detección fitoquímica cualitativa

Se proporciona una metodología para la identificación cualitativa de alcaloides, terpenos, esteroides, fenoles y flavonoides en los extractos de estudio.

4.7.1.2.1. Obtención de extractos para detección cualitativa

Basándose en protocolo de Zhang *et al* (2018) y Vásquez-Morales *et al* (2015), poner 15 g de muestra vegetal seca y pulverizada en un matraz y agregar 75 mL de etanol al 95% (relación para obtener extracto 1:5). Dejar macerar la mezcla de 3-4 días y filtrar el extracto para obtener el solvente. Concentrar el solvente a un volumen de 50 mL y dividirlo en dos partes iguales. La primera muestra de 25 mL es para identificar fenoles, flavonoides y terpenos. Concentrar la segunda muestra de 25 mL hasta retirar todo el

posible etanol y agregar 30 mL de ácido clorhídrico al 1%. Utilizar la parte disuelta para identificar alcaloides.

4.7.1.2.2. Detección de alcaloides

Existe varios métodos para poder detectar la presencia de alcaloides en una muestra. Entre los ensayos más conocidos y utilizados está la evaluación del reactivo de Mayer y la prueba del ácido silicotúngstico (Zhang, *et al* 2018; Jati, *et al* 2019).

- a. Prueba del reactivo Mayer. Tomar 1 mL de muestra preparada para alcaloides en un tubo de ensayo y añadir de 1 a 2 gotas del reactivo de Mayer. La formación de precipitado cremoso de color amarillo o blanquecino indica la presencia de alcaloides.
- b. Prueba del ácido silicotúngstico. Tomar 1 mL de muestra preparada para alcaloides y añadir de 1 a 2 gotas del ácido silicotúngstico. La formación de precipitado amarillo o blanquecino indica la presencia de alcaloides.

4.7.1.2.3. Detección de terpenos y esteroides

El método usualmente conocido para identificar terpenos está basado en la prueba de Salkowski modificada (Indumathi, *et al* 2014; Doss, 2009). También se sugiere un método para determinar esteroides (Zhang, *et al* 2018).

- c. Prueba de Liebermann – Burchard o anhídrido acético. Tomar 2 mL del extracto etanólico en un vidrio de reloj o en una caja Petri y secar en el baño de agua. Disolver el residuo con 1 mL de ácido acético glacial, entonces agregar 1 mL de anhídrido acético y una gota de ácido sulfúrico concentrado. Si la coloración de la reacción se torna sucesivamente amarillo-rojo-violeta-azul-verde intenso, indica la presencia de esteroides, pero si solo se muestra amarillo-rojo-morado es más probable que se trate de triterpenos.
- d. Ensayo de terpenoides (Prueba de Salkowski modificada). Tomar 5 mL del extracto etanólico y mezclar con 2 mL de cloroformo. Calentar ligeramente y dejar enfriar. Agregar lentamente por las paredes del tubo 3 mL de H₂SO₄. A formación de una precipitación de color marrón rojizo en la interfaz indica la presencia de terpenoides.

4.7.1.2.4. Detección de fenoles

Se sugieren dos métodos para determinar la presencia de fenoles (Zhang, *et al* 2018; Jaradat, *et al* 2015).

- e. Tinción de vanilina-HCl. Tomar extracto de etanol y gotear en un papel filtro, y entonces esparcir en forma de spray el reactivo de vanilina-HCl cuando se haya secado. La formación de manchas rojizas de diferentes grados indica la presencia de compuestos fenólicos.
- f. Ensayo de cloruro férrico-ferricianuro de potasio. Tomar 1 mL del extracto de etanol y gotear sobre papel filtro. Una vez secado, esparcir el reactivo de cloruro férrico-ferricianuro de potasio. Si se observa la presencia de una mancha azul, indica la presencia de compuestos fenólicos y taninos.

4.7.1.2.5. Detección de flavonoides

Según varios autores, existen diversos métodos para determinar la presencia de flavonoides, se describen dos a continuación (Zhang, *et al* 2018; Zohra, *et al* 2012; Mojab, *et al* 2010).

- g. Prueba de Shinoda. Tomar 5 mL del extracto etanólico en un tubo de ensayo, añadir 0.5g de polvo de magnesio y mezclar. Agregar unas gotas de ácido clorhídrico. Una coloración de rojo a rosa debe aparecer dentro de aprox. 3 min.
- h. Tomar 1 mL del extracto de etanol en un tubo de ensayo y añadir de 1-2 gotas de cloruro de aluminio al 1%. La formación de un color amarillo con fluorescencia indica la presencia de flavonoides.

4.7.1.3. Determinación de compuestos candidatos en los extractos por medio de Cromatografía en Capa Fina (TLC). Método sencillo.

La determinación de compuestos por Cromatografía en Capa Fina (TLC) resulta muy sencillo y eficaz cuando los componentes separados se encuentran en una concentración lo suficientemente detectable, de lo contrario el método pierde sensibilidad. Se ofrece una serie de pasos para lograr la identificación de los compuestos candidatos por medio de la TLC.

4.7.1.3.1. Obtención de extracto

En un frasco previamente esterilizado colocar 5 g de materia vegetal, seca y triturada, sea el caso, sarcotesta de *Magnolia* o semillas de *Argemone*, junto con 25 mL de etanol (95-96%), cerrar frasco, envolver en papel aluminio y llevar a un cuarto oscuro con temperatura de 4°C. Dejar reposar por 3-4 días. Filtrar el extracto con papel filtro cualitativo (Whatman No. 1) y un embudo de vidrio sujeto a una probeta para medir el volumen inicial obtenido del extracto. Una vez medido el extracto pasar a un matraz de evaporación para su posterior destilación en un Rotavapor Büchi R-300. Concentrar el extracto hasta que deje de evaporar el solvente. Recuperar el extracto reducido con ayuda de una pipeta graduada para medir el volumen final obtenido y calcular la concentración del extracto (Ecuación 2).

$$x = M_i/X_f$$

Ecuación 2. Fórmula para calcular concentración de extractos botánicos.

x = concentración del extracto en g/mL
 M_i = masa de materia vegetal en gramos
 X_f = volumen final del extracto reducido

4.7.1.3.2. Fraccionamiento de extractos

Empaquetar una columna de vidrio con sílica gel (óxido de silicio) y taponear con algodón. Montar la columna y comenzar a activar agregando 2 mL de solvente (hexano, acetato de etilo o etanol, según corresponda). Cuando esté suficientemente activada colocar en la columna el extracto crudo. Agregar hexano para comenzar a eluir las moléculas menos polares y coleccionar las fracciones en tubos de ensayo. Después agregar acetato de etilo para separar las moléculas medianamente polares y coleccionar las fracciones. Por último, agregar etanol para obtener las moléculas más polares y coleccionar las fracciones. Resguardar todas las fracciones a temperatura de 4°C.

4.7.1.3.3. Separación por TLC

En una cromatoplaqueta de gel sílice marcar una línea con lápiz alejada unos 12 mm del extremo inferior. Aplicar de un lado de la línea los compuestos puros con uso de un capilar y del otro lado las fracciones obtenidas. Las manchas de las muestras no deben tener más de 3 mm de diámetro y deben estar espaciadas mínimo 1 cm. Agregar en una cámara

cromatográfica suficiente eluyente compuesto de tres solventes de diferente polaridad como se muestra en la Tabla 4.11. Tapar y dejar la cámara unos minutos para crear una atmósfera de fase móvil. Enseguida colocar las cromatoplasmas con las muestras a separar, tapar la cámara y dejar correr hasta que el frente del disolvente llegue 50 mm antes del límite. Inmediatamente delimitar cuidadosamente la superficie de la cromatoplasma para indicar el frente del disolvente. A continuación, dejar secar al aire un momento para evaporar el solvente orgánico.

Tabla 4.11. Proporciones de los solventes para la fase móvil en TLC.

Soluciones	Proporciones			
	Solvente	Hexano (%)	Acetato de etilo (%)	Etanol (%)
Eluyente 1		70	20	10
Eluyente 2		20	70	10
Eluyente 3		10	20	70

Solución 1: Para muestras no polares. Solución 2: para medianamente polares. Solución 3: Para polares.

4.7.1.3.4. Determinación de compuestos

Revelar las cromatoplasmas para visualizar los componentes separados de cada muestra aplicada según sea la técnica reveladora (vapores de I₂, permanganato de potasio o luz ultravioleta). Comparar las muestras separadas. Para calcular cada R_f, medir la distancia recorrida de cada componente separado y dividir entre la distancia recorrida por el eluyente. Analizar los R_f similares o iguales con los controles o compuestos de referencia.

4.7.1.4. Método desarrollado. Extracción, aislamiento e identificación de compuestos de los extractos.

Se sugiere que la estrategia para identificar los compuestos con actividad insecticida sea por aislamiento de bioactivos guiado por bioensayos. En este caso se refiere a evaluar la actividad insecticida de las particiones o fraccionamientos obtenidos en *A. ludens*. Si existiera efectividad en alguna de las particiones o fracciones, se recomienda proseguir con el fraccionamiento y evaluar aquellas fracciones nuevamente en *A. ludens* y así poder analizar y llegar a compuestos deseables (Hits, actividad insecticida).

Se propone que a partir del extracto principal se obtengan cinco extracciones (particiones), una corresponde a a) terpenos apolares, b) terpenos moderadamente polares, c) fenoles generales, d) flavonoides y e) alcaloides.

Simultáneamente, se recomienda se lleve a cabo la determinación de los compuestos candidatos en los extractos o fracciones por TLC (unidimensional o bidimensional) y se aconseja, aparte de obtener los Rf, realizar una identificación *in situ* espectroscópica con UV-Vis para obtener mayor confiabilidad de los resultados.

De manera alternativa, se proponen procedimientos para el análisis directo de las post-extracciones, si es que los recursos del laboratorio lo permiten y entonces evaluar los constituyentes de mayor composición en la plaga *A. ludens*.

4.7.1.4.1. Obtención de extracto base

Todos los extractos requeridos para los posteriores experimentos deben ser preparados en la proporción 1:5 (masa/volumen), independientemente del volumen de acuerdo con Vásquez-Morales *et al* (2015). De esa forma, tomar la materia vegetal preparada y agregarla en un frasco o matraz Erlenmeyer y después agregar el volumen respectivo de etanol al 96%. Enseguida cerrar frasco, llevarlo a un cuarto oscuro con temperatura de 0°C y dejar macerar por 3-4 días. Filtrar el extracto con papel filtro cualitativo (Whatman No. 1) y un embudo de vidrio sujeto a una probeta graduada para medir el volumen inicial obtenido del extracto. Vaciar el extracto en un matraz y concentrarlo hasta evaporar todo el solvente con uso de rotavapor.

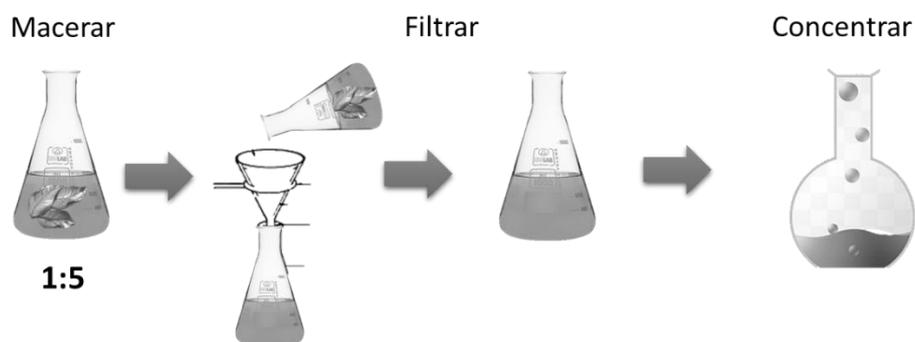


Figura 4.20. Protocolo estándar para obtener los extractos.

4.7.1.4.1. Aislamiento de terpenos no polares

Este método describe los pasos para extraer terpenos primarios no polares, como en el caso de 10, 6, 47 y 37 (Jiang, *et al* 2016).

Para preparar el extracto utilizar 5 g de materia vegetal y 25 mL de etanol al 96%. Introducir en una columna de vidrio lana de vidrio y después empaquetar con sílica gel (óxido de silicio) y taponear con algodón. Es muy recomendable que el volumen de llenado de sílica sea a la mitad de la columna. Montar la columna y comenzar a activar agregando 2 mL de solvente (hexano). Una vez activada y saturada la columna, colocar 1 mL de extracto crudo y permitir que entre completamente en la columna.

Agregar un volumen de hexano igual al volumen de sílica y permitir que entre a la columna, eso para eluir las moléculas menos polares, y repetir varias veces. Usualmente, las moléculas más pequeñas y menos polares eluirán primero, por ejemplo, para eluir el escualeno se requieren 10 volúmenes aproximadamente. Colectar las fracciones del mismo volumen agregado de hexano en tubos de ensayo siguiendo cuidadosamente el orden de salida.

Repetir la separación en la columna las veces necesarias para obtener suficiente volumen de cada fracción (enriquecer) y evaluar la actividad insecticida contra *A. ludens*, de acuerdo con la metodología descrita en la sección 4.7.2. Analizar aquellas fracciones que tengan compuestos deseables (HIT) por CG-FID-MS, además de una caracterización con IR o NMR de compuestos no identificados.

Para identificar por TLC, aplicar con un sembrador capilar cada una de las fracciones obtenidas, así como los compuestos estándares (10, 6, 7, 5, 12, 8, 13, 47, 37) en una cromatoplaça de sílica a una altura de 1.5 cm del borde inferior e igualmente espaciadas cada mancha 1.5 cm. Correr la elución de la placa en una cámara con n-hexano. Retirar la placa cuando el eluyente llegue a pasar una altura de 7 cm a partir de la zona de aplicación. Revelar con luz UV y comparar Rf. Para mayor confiabilidad de los resultados se recomienda realizar una identificación *in situ* espectroscópica con UV-Vis.

Para un análisis completo de las fracciones, transferir una alícuota de 100 a 200 µL de cada fracción dentro de los viales de CG y analizar la muestra usando CG acoplado a MS o FID. O bien, es posible la separación por HPLC en fase normal. Transferir el extracto concentrado a un vial apropiado del HPLC (aunque no es tan recomendable si los compuestos son muy volátiles). Inyectar la muestra completa y correr en modo isocrático (100% n-hexano) a 8 mL/min. Colectar las fracciones eluidas y analizar las fracciones

individuales por CG acoplado a un detector de ionización de flama (FID) o MS (Figura 4.21).

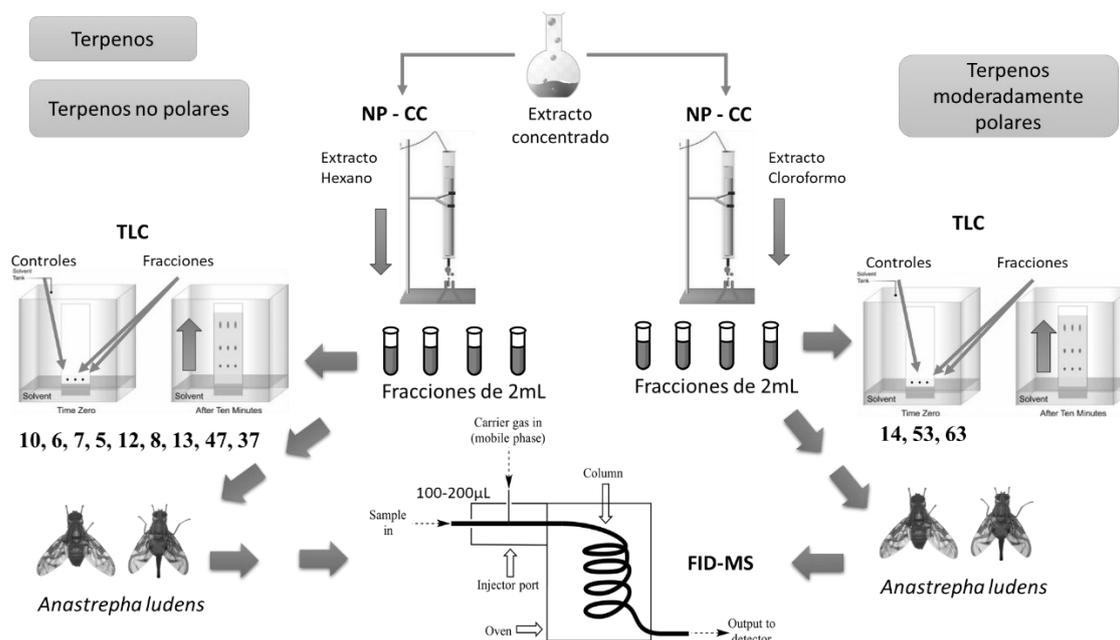


Figura 4.21. Extracción, aislamiento y determinación de terpenos no polares y medianamente polares.

4.7.1.4.2. Aislamiento de terpenos con modificaciones (medianamente polares)

Los compuestos 14, 53 y 63 pueden considerarse terpenos medianamente polares y un procedimiento para obtenerlos es el que sigue a continuación (Jiang, *et al* 2016).

Para preparar el extracto utilizar 10 g de materia vegetal y 50 mL de etanol al 96%. Introducir en una columna de vidrio (pipeta serológica de vidrio) lana de vidrio y después empaquetar con sílica gel (óxido de silicio) y taponear con algodón. Montar la columna y comenzar a activar agregando 2 mL de solvente (cloroformo). Una vez saturada la columna, colocar 1 mL de extracto crudo y permitir que entre completamente en la columna.

Utilizar por cada 10 mL de muestra 20 mL de cloroformo. Agregar volúmenes de 1 mL de cloroformo, permitir que entre a la columna y agregar el siguiente mL. Colectar todo el eluyente, transferirlo a un matraz y evaporar en rotavapor de 50 a 100rpm a 40-50°C. Suspender el extracto seco en 200 µL de hexano y transferirla una alícuota de 100 a 200 µL de cada fracción dentro de un vial de CG y analizar la muestra usando CG acoplado a MS.

En una identificación rápida por TLC, colocar las manchas de los extractos y los compuestos estándar (14, 53, 63) con un sembrador capilar en una cromatoplaaca a una altura de 1.5 cm del borde inferior e igualmente espaciadas cada 1.5 cm. Llevar a cabo la separación en una cámara que contiene un eluyente (1:1) ciclohexano: acetona. Retirar la placa cuando el eluyente llegue a pasar una altura de 7 cm a partir de la zona de aplicación. Revelar con luz UV y comparar Rf. Para mayor confiabilidad de los resultados se recomienda realizar una identificación *in situ* espectroscópica con UV-Vis.

Evaluar la actividad insecticida de las fracciones colectadas de la cromatografía de columna contra *A. ludens*, de acuerdo con la metodología descrita en la sección 4.7.2. Analizar aquellas fracciones que tengan compuestos deseables (HIT) por CG acoplado a FID o MS (Figura 4.21). Hacer uso de las técnicas FTIR o NMR para elucidación de compuestos que resultaron desconocidos.

4.7.1.4.3. Aislamiento de fenoles y flavonoides

En caso de los flavonoides 28 y 29 se pueden obtener bajo las siguientes metodologías.

Para preparar el extracto utilizar 10 g de materia vegetal y 50 mL de etanol al 96%. Para obtener fenoles simples y ácidos fenólicos realizar hidrólisis ácida del extracto etanólico. Agregar de 15-20 mL de HCl al 2M al extracto etanólico, mezclar lento y dejar actuar por 0.5 horas. Enfriar la solución resultante en baño de hielo y filtrar. Realizar extracciones con éter de petróleo, lavar el extracto y evaporar hasta sequedad. Para una separación en TLC, disolver el residuo en éter, aplicar la muestra en la placa junto con las muestras estándar y correr en una cámara que contiene el eluyente ácido acético al 10% en cloroformo (Harborne, 1973; Stalikas, 2007).

Es posible realizar una cromatografía de capa fina bidimensional al eluir la placa con un segundo eluyente, acetato de etilo al 45% en benceno. Enseguida obtener y comparar valores de Rf. Realizar comparaciones espectrales de UV-Vis. Para una identificación completa del extracto realizar HPLC-RP acoplado a una técnica de MS. Evaluar la actividad insecticida de los mayores componentes del extracto contra *A. ludens*.

Concentrar con rotavapor las extracciones de éter de petróleo y realizar fraccionamiento del extracto concentrado con CC en fase reversa (utilizar C-18). Llevar a cabo la elución primero con la mezcla metanol/ácido acético/agua (30:10:60) y después con la mezcla acetonitrilo-ácido acético (90:10). Colectar las fracciones y evaluarlas en *A. ludens* como

se describe en la parte 4.7.2. Analizar las fracciones que contengan Hits en RP-HPLC acoplada a MS y si se requiere elucidación estructural utilizar NMR o IR (Robards, 2003; Khoddami, *et al* 2013; Figura 4.22).

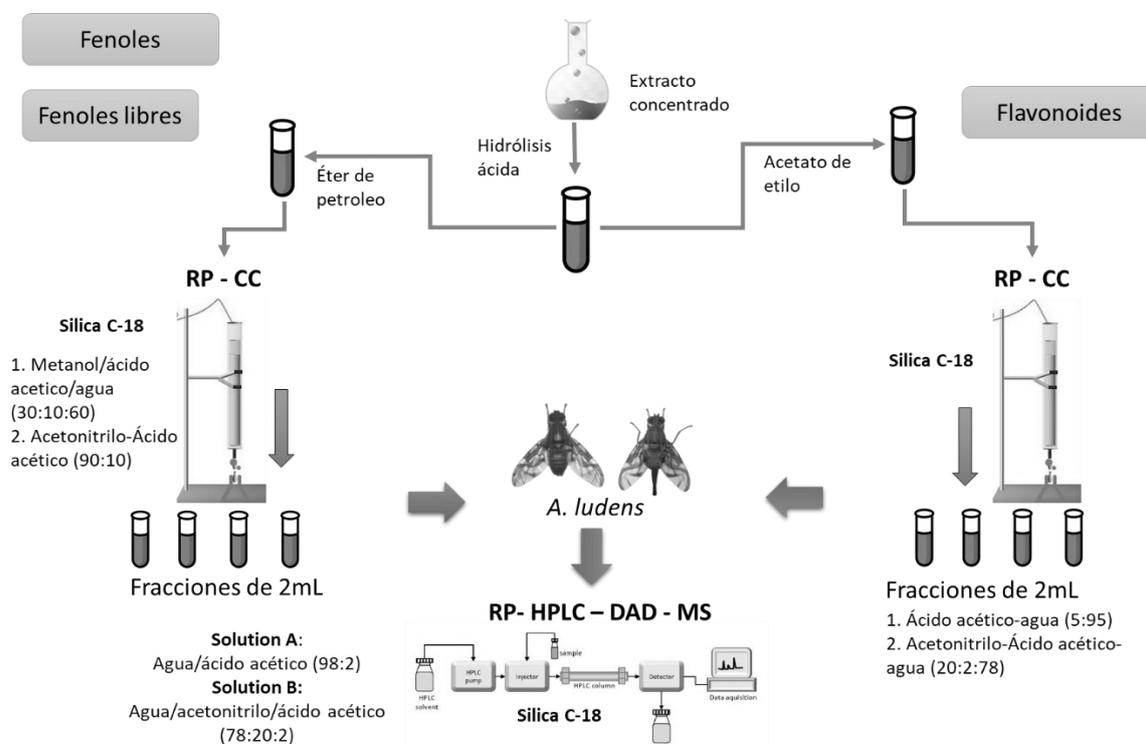


Figura 4.22. Extracción y aislamiento de fenoles libres y flavonoides.

Los flavonoides pueden ser separados a partir del extracto etanólico con una cromatografía de capa fina bidimensional. En una cromatoplaqa cuadrada aplicar con un sembrador capilar las muestras y los marcadores (28 y 29). Eluir la placa en una cámara con el eluyente BAW (n-butanol-ácido acético-agua en 4:1:5; primera dimensión) y posteriormente eluir en ácido acético acuso al 5%. Obtener y comparar valores de R_f del eluyente 1 y el eluyente 2. Asimismo, realizar comparaciones espectrales de UV-Vis.

Del mismo modo, para obtener flavonoides es necesario agregar de 15-20 mL de HCl al 2M al extracto etanólico, mezclar lento y dejar actuar de 30-40 minutos. Enfriar la solución resultante en baño de hielo y filtrar. Realizar dos extracciones con acetato de etilo y evaporar hasta sequedad. Agregar al residuo 1-2 gotas de etanol y cromatografiar con los marcadores en una sola dimensión. Primero eluir con Forestal (ácido acético-HCl concentrado-agua en 10:3:30), segundo con ácido acético al 50% (complementa la separación de agliconas), tercero con BAW (n-butanol-ácido acético-agua en 4:1:5; reconfirma la separación de flavonoides C-glicósidos y O-glicósidos), la cuarta elución

con fenol saturado (flavonas metiladas) y la quinta elución solo agua (glicoflavonas, isoflavonas y flavanonas; Harborne, 1973; Stalikas, 2007).

Concentrar con rotavapor las extracciones de acetato de etilo y realizar fraccionamiento del extracto concentrado con CC en fase reversa (utilizar C-18). Llevar a cabo la elución primero con la mezcla ácido acético-agua (5:95) y después con la mezcla acetonitrilo-ácido acético-agua (20:2:78). Colectar las fracciones y evaluarlas en *A. ludens* como se describe en la parte 4.7.2. Analizar las fracciones que contengan Hits en RP-HPLC acoplada a MS (Robards, 2003; Khoddami, *et al* 2013; Figura 4.22).

La identificación general de compuestos fenólicos puede llevarse a cabo en HPLC de fase reversa al utilizar una columna empacutada de sílica-C18. Obtener extracto concentrado y agregar 50 mL de etanol-agua (70:30), separar por decantación y/o filtrar la parte soluble. Evaporar por completo el solvente y cargar a la columna. Realizar la elución a temperatura ambiente usando la solución A (ácido acético al 2% en agua) y la solución B (agua-acetonitrilo-ácido acético, 78:20:2) a un flujo de 1 mL/min. durante los primeros 55 min., y enseguida a un flujo de 1.2 mL/min hasta el final. Las condiciones de elución en gradientes son: 0-55 min, 100-20% A; 55-70 min, 20-10% A; 70-80 min, 10-5% A; y 80-100 min, 100% B. Realizar detección con matriz de fotodiodos (PDA) combinado con ESI-MS (Eissa, *et al* 2013).

Evaluar la actividad insecticida de los extractos de éter, de acetato de etilo y etanólicos (70%) contra *A. ludens*. Enriquecer los extractos, evaluarlos y realizar fraccionamiento por cromatografía de columna de aquellos que resultaron con posibles Hits. Volver a evaluar las fracciones obtenidas contra *A. ludens*. Analizar aquellas fracciones que contengan Hits e identificar los compuestos. Se sugiere utilizar IR o NMR para caracterizar compuestos desconocidos.

4.7.1.4.4. Aislamiento de alcaloides

Los métodos de extracción y aislamiento de alcaloides propuestos a continuación pueden ayudar a lograr obtener los siguientes compuestos: 6, 9, 5, 8, 1, 2 y 7.

Para preparar el extracto utilizar 10 g de materia vegetal y 50 mL de etanol al 96%. Agregar al extracto concentrado 80 mL de ácido tartárico al 0.5% en metanol, mezclar y filtrar el sobrenadante en un matraz de 250 mL. Realizar una segunda extracción con otros 80 mL de ácido tartárico al 0.5% en metanol, mezclar y agregar el filtrado al mismo

matraz (extracto de alcaloides). Analizar el extracto lo más pronto posible (dentro de 1 h) y proteger de la luz (Fletcher, *et al* 1993; Figura 4.23).

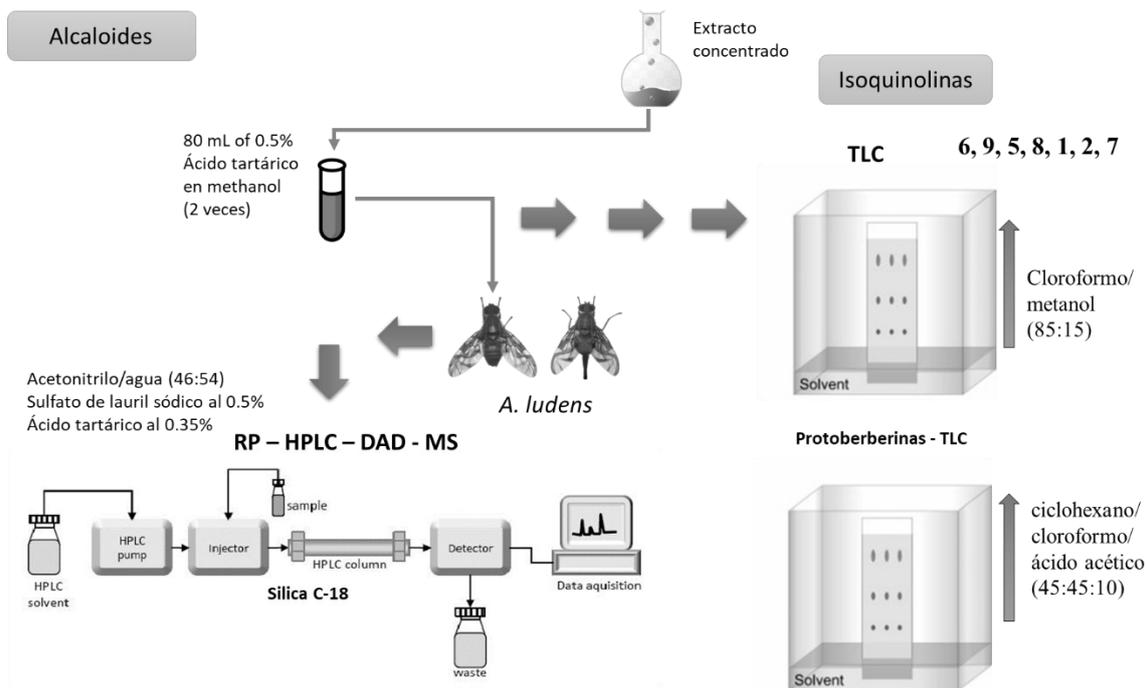


Figura 4.23. Extracción y aislamiento de alcaloides de tipo isoquinolinas.

Para una separación e identificación de isoquinolinas en TLC. Sembrar con un capilar la muestra y los estándares en una cromatoplaqa de sílica. Agregar suficiente eluyente de cloroformo-metanol (85:15) a una cámara, dejar formar atmósfera y poner a eluir la placa. Para separar e identificar protoberberinas eluir la placa con ciclohexano-cloroformo-ácido acético glacial (45:45:10), o bien se puede realizar una TLC en doble dimensión siendo la mezcla de cloroformo-metanol el eluyente 1 y la mezcla de ciclohexano-cloroformo-ácido acético glacial el eluyente 2 usando una cromatoplaqa cuadrada. Después de eluir, dejar secar un momento y revelar bajo luz UV (Mandal, *et al* 2015c).

Para una separación en HPLC-RP utilizar una columna de C18. Inyectar alícuotas de 20 μL del extracto y eluir en modo isocrático con la mezcla acetonitrilo-agua (46:54) con lauril sulfato de sodio al 0.5% y ácido tartárico al 0.35% a una tasa de flujo de 2 mL/min. Detectar con PAD a 270 nm y analizar con ESI-MS. De igual forma analizar los compuestos estándares y realizar comparaciones (Luo, *et al* 2006). Evaluar la actividad insecticida de los compuestos de mayor composición en *A. ludens*.

A la vez que se obtiene el extracto de alcaloides, evaluar su actividad insecticida contra *A. ludens*. Si resulta con Hits, llevar a cabo su fraccionamiento y analizar por HPLC-RP-

MS para identificar los compuestos. Se sugiere utilizar técnicas de elucidación estructural como IR o NMR para caracterizar compuestos desconocidos.

Otro modo adicional de extraer alcaloides es suspender al extracto concentrado con 50 mL de agua a pH 6.0 y extraer con 25 mL de n-hexano tres veces. A la fase acuosa extraer con 25 mL de cloroformo tres veces. A la fase de cloroformo realizar extracción con 25 mL de HCl al 1N dos veces. A la fase de HCl reextraer con 25 mL de cloroformo dos veces bajo condiciones básicas a pH 10.0 ajustado con carbonato de sodio para obtener la fase de alcaloides (Ueno, *et al* 2019). Utilizar esta fase para los ensayos de toxicidad contra *A. ludens*.

4.7.1.5. Caracterización y elucidación de compuestos no identificados

4.7.1.5.1. Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

Tomar de los bordes (pinzas o con los dedos) dos placas de cloruro de sodio (sal gema) y limpiarlas de la parte brillante con diclorometano (CH_2Cl_2) o ciclohexano (C_6H_{12} , nunca con agua). Si la muestra es líquida colocar una gota en el centro de cada una de las placas, entonces presionar juntas con ayuda de papel suave y rotarlas para generar una película uniforme.

Si la muestra es sólida, pulverizar en un mortero de ágata 3 mg de muestra, agregar 3-4 gotas de aceite mineral (Nujol) y formar una pasta homogénea. Colocar la pasta en una ventana o placa de NaCl, presionar con otra placa para formar una película uniforme (Pavia, *et al* 2012).

Tomar la placa que contiene la muestra, colocarla en el portamuestras del espectrofotómetro FTIR y obtener el espectro (Cervera & Mendoza, sin fecha).

4.7.1.5.2. Resonancia Magnética Nuclear (NMR)

Para moléculas pequeñas, el espectro de H-NMR se requiere entre 5-25 mg de material y el de C-NMR se requiere de 50-100 mg. Dichas cantidades permiten obtener un espectro de ^1H en pocos minutos y el de ^{13}C en 20 hasta 60 min. Para moléculas más grandes y polímeros se requieren cantidades más grandes de material (Avella, sin fecha).

Poner en un vial la muestra y agregar 1 mL del solvente deuterado, mezclar con una pipeta Pasteur. No reutilizar la pipeta para volver a tomar solvente deuterado (los átomos de ^1H son reemplazados por deuterio ^2D). Se puede utilizar calor o vortex con el fin de obtener una disolución completa. Filtrar la mezcla con algodón tratado con éter de petróleo y seco. Vaciar la mezcla al tubo de NMR (Hornak, undated).

Si la muestra es muy soluble en el solvente o es líquida, agregar solvente deuterado al tubo de NMR y después la muestra. Llenar el tubo hasta 5 cm de altura (Augusta University, undated). Por lo general siempre se invierten 0.6-0.7 mL de solvente. Colocar el tubo de NMR en el centro del imán, posicionar en la sonda de NMR y obtener los espectros. Se recomienda obtener las líneas espectrales del solvente para identificar la muestra desconocida (The University of Dublin, 2017).

4.7.2. Proceso de evaluación de muestras

4.7.2.1. Traslado y montaje de insectos

Las pupas de las moscas se producen en la Planta Mosca Frut en Metapa de Domínguez, Chiapas y se esterilizan usando radiación de ^{60}Co . Trasladar las pupas mediante vía aérea a Guanajuato, Gto, y mantenerlas en el Laboratorio de Botánica e Invertebrados y en el cuarto de experimentación con condiciones preestablecidas de temperatura (25°C), humedad relativa (60%) y régimen de luz (12/12h). Vaciar las pupas en una placa de Petri de vidrio estéril e introducirla en una jaula de madera ($0.3\text{m} \times 0.3\text{m} \times 0.3\text{m}$) que está forrada con maya de tela, junto con un bebedero con agua purificada. Dejar emerger los adultos dentro de 1-2 días. Dejar madurar sexualmente las moscas de 5-6 días y mantenerlas con agua purificada y alimento (azúcar de mesa).

Previo a la experimentación, introducir con mucho cuidado 25 machos y 25 hembras en las jaulas de madera con uso de trampas de succión que contienen algodón. Dejar a las moscas en ayuno de 24 horas con un contenedor de agua purificada, en el cuarto de experimentación bajo las mismas condiciones preestablecidas.

4.7.2.2. Bioensayos de toxicidad por ingestión

Para realizar los bioensayos por ingestión primero hay que adquirir los compuestos candidatos.

Argemone: Sanguinarina (6), berberina (9), protopina (5), queleritrina (8), dihidrosanguinarina (1), dihidroqueleritrina (2), cospitina (7), allocriptopina (4), eriodictiol (29), luteolina (28)

Magnolia: β -cariofileno (37), β -felandreno (10), α -terpineno (11), α -felandreno (7), β -mirceno (5), *p*-cimeno (12), óxido de cariofileno (53), (E)-nerolidol (63), β -pineno (3), limoneno (8), β -selineno (47) y α -terpineol (14).

La sugerencia es que sean de grado HPLC. Posteriormente se propone evaluar al menos cinco concentraciones, para que sea posible realizar curvas de toxicidad y lograr obtener las dosis letales.

Simultáneamente se propone que se haga una confirmación de la toxicidad de los extractos etanólicos de sarcotesta de *M. vovidesii* y *A. ochroleuca* contra la mosca *A. ludens*.

4.7.2.3. Bioensayos de toxicidad por ingestión de los compuestos candidatos

Cada bioensayo consiste en al menos seis tratamientos con tres repeticiones evaluados en tres cohortes diferentes de moscas. Dos tratamientos son el control positivo y el control negativo. El resto de los tratamientos son las concentraciones por evaluar del compuesto candidato. Colocar en el comedero una base de algodón de 0.07 g y encima agregar el cebo, que consiste en 1 mL jugo de mango o 1 g de azúcar.

Para los comederos del control positivo agregar 2 mL de piretro (Pyrethrum extract, Sigma Aldrich). Para los comederos del control negativo agregar 2 mL del solvente donde se diluya el compuesto a evaluar. Para los comederos de los tratamientos a evaluar, agregar 2 mL de la concentración del compuesto candidato. Las concentraciones propuestas para ensayar son 5, 2, 0.5, 0.1 y 0.02 g/L. Dar los tratamientos a las moscas para que sean consumidos y contar el número de muertas a las 24 h.

4.7.2.4. Bioensayos de toxicidad por ingestión de los extractos etanólicos

Obtener un extracto etanólico utilizando 50 g de materia vegetal y 250 mL de etanol al 96%. Vaciar el extracto en un matraz y concentrarlo con uso de rotavapor entre 10-11 mL.

El bioensayo consiste en cinco tratamientos, control positivo, control negativo y tratamientos a evaluar. Colocar en el comedero una base de algodón de 0.07 g y encima agregar el cebo, que consiste en 1 mL jugo de mango o 1 g de azúcar. Para el control negativo agregar en los comederos 2 mL de etanol. Para los comederos del control positivo agregar 2 mL de piretro. Para los tratamientos agregar 2 mL de las diluciones del extracto, 1:1, 1:10 y 1:100. Repetir tres veces el bioensayo en tres cohortes diferentes. Ofrecer los tratamientos a las moscas previamente ayunadas 24 h y contar mortalidad por cinco días.

4.7.2.5. Bioensayos de toxicidad por ingestión de las particiones o fracciones

Para ensayar las particiones o fracciones el bioensayo consiste en cuatro tratamientos. Evaporar el solvente hasta un volumen de 7-8 mL. Preparar los comederos con la base de algodón (0.7 g) y el cebo (1 g de azúcar o 1 mL de jugo de mango). Agregar 2 mL de la fracción o partición en los comederos de tratamiento. Agregar 2 mL del solvente al comedero del control negativo y 2 mL de piretro al del control positivo. Registrar mortalidad a las 24 h. Repetir el bioensayo una vez más en una cohorte diferente.

4.7.2.6. Análisis de datos

Calcular la mortalidad corregida de Abbott (Ecuación 3) y curvas de supervivencia de Kaplan Meier en el software R core Team v4.1.0 (R core Team, 2021). Realizar un análisis de varianza (ANOVA) y la obtención de dosis letales 50 y 90 (Reed & Muench, 1938).

$$Mortalidad\ corregida = 1 + \frac{X - Y}{X - Z} (100\%)$$

Ecuación 3. Fórmula de Abbott (1987).

X = no. de insectos iniciales en la jaula

Y = no. de insectos muertos en la jaula

Z = no. de insectos muertos en la jaula del control negativo

CAPÍTULO V

5. Discusiones

Los compuestos encontrados de las cuatro especies de *Argemone* fueron fielmente aislados de las semillas, ya que los extractos etanólicos de *A. ochroleuca* están elaborados de semilla. Se sugiere que los lípidos son importantes constituyentes de las semillas de *Argemone*. Sharma *et al* (2012) reportaron que los componentes lipídicos del aceite de la semilla de *A. mexicana* representan el 29.5% de su masa.

Las semillas de *Argemone* spp y en general de la familia Papaveraceae, se caracterizan por su disponibilidad de alcaloides (Phillipson, Roberts & Zenk, 2012). El estudio de Fletcher *et al* (1993) encontró que los alcaloides más representativos de las semillas de *A. ochroleuca* son la dihidrosanguinarina y dihidroqueleritrina en una proporción 3:2 y en menor proporción protopina, queleritrina, berberina y sanguinarina. Otros constituyentes en menor cantidad son los flavonoides. El estudio de Harborne & Williams (1982) reexaminaron el extracto de semilla de *A. mexicana* y encontraron que los flavonoides luteolina y eriodictiol se encuentran en una concentración menor al 0.5%.

Existen más de 50 especies en el género *Argemone*, sin embargo, no se encontraron estudios que reporten un análisis fitoquímico de las semillas de casi todas las especies. Se destaca que la mayor parte de los compuestos hallados fueron aislados de las semillas de la especie *A. mexicana*. Mientras que de *A. platyceras* y *A. grandiflora* se han aislado muy pocos compuestos. En el estudio de análisis de Marin *et al* (1989) reportaron los principales ácidos grasos de las semillas de *A. platyceras* y *A. grandiflora* (Apéndice 4.1), y por otro lado Hakim *et al* (1961) reportaron alcaloides de la semilla de *A. platyceras* (Apéndice 4.1). En general, la exploración de compuestos naturales en semillas de *Argemone* spp es baja.

Los extractos etanólicos de *M. vovidesii* están elaborados esencialmente de sarcotesta (arilo). No obstante, los compuestos encontrados de las especies de *Magnolia* no solo provienen de sarcotesta, sino también de frutos y semillas. Estas estructuras han sido consideradas debido a que en su análisis fue incluida la sarcotesta. Como ejemplo, en el estudio de Rehman *et al* (2013) se analizaron los constituyentes de los aceites esenciales de semillas con arilo de *M. grandiflora*. O bien, en el estudio realizado por Barros *et al* (2012) analizaron los compuestos de los extractos de frutos completos de especies de *M. ovata*. Por lo tanto, varios compuestos obtenidos de los extractos de frutos y semillas estaban presentes en el arilo (Apéndice 4.2).

Los resultados de la revisión bibliográfica sugieren que los terpenos podrían ser los mayores constituyentes de la sarcotesta de *Magnolia* spp. En el estudio de Zheng *et al* (2019) se reportó que los componentes principales de la sarcotesta de *M. kwangsiensis* son monoterpenos (86.59%) y sesquiterpenos (5%), siendo un total de 29 constituyentes identificados. Por otro lado, en el estudio de Luo *et al* (2012) se encontró que el aceite esencial de las semillas de *M. grandiflora* está compuesto por terpenos (60.42%). Otro análisis químico reciente caracterizó los componentes presentes en el aceite esencial de semilla de *M. grandiflora* mediante GC-MS y también encontró que los terpenos (54.2%) están en mayor composición (Ali, *et al* 2020).

Otros grupos de moléculas que puede albergar la sarcotesta de *Magnolia* spp son los ácidos grasos, y en menor concentración fenoles. Wang *et al* (2016) reportaron que el hidrodestilado de semilla de *M. denudata* contiene aproximadamente 27% de ácidos grasos. Además, Wang y colaboradores (2019) reportaron que el honokiol se encuentra en un porcentaje de 0.0028%.

Se ha descrito que los alcaloides se distribuyen dentro del género *Magnolia* (Shamma & Slusarchyk, 1964). Se identificaron alcaloides en un 0.0109% de los frutos de *M. ovata*, principalmente alcaloides del tipo aporfina (Barros, *et al* 2012).

Gran parte de los compuestos encontrados pertenecen a *M. grandiflora*, sin embargo, aún no hay reportes que describan que compuestos alberga su sarcotesta, como el caso de *M. kwangsiensis*. El número de compuestos aislados de *M. denudata* y *M. officinalis* fue menor, aunque realmente todos se aislaron de su semilla. Con base en la revisión, el número de especies de *Magnolia* estudiadas en cuanto a fitoquímicos de la sarcotesta es muy escaso, teniendo en cuenta que se trata de un género conformado por 312 especies. En adición, *Magnolia* spp son de las pocas dicotiledóneas basales y todas sus especies se encuentran bajo alguna categoría de riesgo, por lo que promover el estudio controlado de sus fitoquímicos ayudará a su conservación (Rivers, *et al* 2016).

Tras la clasificación de los principales grupos de compuestos, se investigaron sus roles biológicos, así como de sus respectivas clases y subclases, desde un aspecto fisiológico hasta ecológico. Se asume que los principales grupos de compuestos identificados pertenecen a terpenoides, fenoles, alcaloides y lípidos. Los primeros tres grupos tienen funciones de defensa y protección a las plantas contra diversos factores, mientras que el último grupo abarca funciones energéticas. Chadwick & Whelan (2008) afirman que los

principales grupos de moléculas que pertenecen al metabolismo secundario son los terpenos, fenoles y alcaloides. Por lo tanto, los lípidos, en especial, los ácidos grasos no pertenecen a esta clasificación.

El metabolismo secundario consiste en rutas especializadas que biosintetizan moléculas que no están involucradas directamente en los procesos metabólicos primarios de un organismo. A tales compuestos especializados se les conoce como metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios representan caracteres adaptativos sujetos a la selección natural y, por esto, el metabolismo secundario se considera una parte integral del programa de desarrollo de las plantas (Chadwick & Whelan, 2008; Lattanzio, 2013).

El metabolismo secundario está involucrado en muchas interacciones ecológicas de las plantas, como las interacciones entre plantas y herbívoros. Estas interacciones datan de hace 300-400 millones de años (Paleozoico), cuando las primeras plantas vasculares comenzaron a ganar territorio terrestre y los artrópodos empezaron a emerger. Al colonizar el suelo se diversificó su metabolismo secundario, lo cual permitió a las plantas luchar contra todo tipo de situaciones extrañas y sobrevivir (Merillon & Ramawat, 2019).

Desde entonces, los procesos biológicos entre los insectos y plantas han co-evolucionado, influenciado en gran medida por el metabolismo secundario. Por lo que, la química juega un rol muy importante en los ciclos de vida de las plantas y la competencia por su supervivencia en un determinado ambiente (Merillon & Ramawat, 2019). Estos organismos no pueden escapar de los estresores bióticos (patógenos y depredadores) ni abióticos (sequía, temperatura y luz solar) y para protegerse contra ellos, han explotado sus sistemas metabólicos creando un rico repertorio de complejos productos naturales (Lattanzio, 2008).

Se sugiere que los terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides albergados en las semillas (*Argemone*) y la sarcotesta (*Magnolia*) cumplen funciones de defensa y protección contra depredadores como los insectos y esto explica a qué se debe el potencial insecticida de sus extractos etanólicos contra *A. ludens*. Mientras que, por el lado de los ácidos grasos, sus principales funciones son proporcionar energía albergada en la semilla y la sarcotesta, y estarían menos implicados en formar parte de un rol defensivo.

Por esta razón, los grupos terpenos, fenoles y alcaloides han sido seleccionados para proseguir a la selección de compuestos candidatos. Su selección aumenta las posibilidades de que algunos de los compuestos que los conforman posean mayor

actividad insecticida contra *A. ludens*, y también, que sean algunos de los responsables de dicha actividad.

El primer y segundo criterio permiten saber que compuestos tienen mayor probabilidad de estar presentes en la estructura vegetativa objetivo a nivel género independientemente de la especie. Entre más veces se encuentre un compuesto dentro de las especies de un género es muy probable encontrarlo también en otra especie donde aún no se ha identificado. En el análisis taxonómico de flavonoides realizado por Perrino y colaboradores (1989) sus resultados reportaron la presencia común de hiperósido y rutina en cinco especies de *Vicia*. Posteriormente, Chen *et al* (2015) demostró la presencia de rutina en la especie *Vicia sepium*. Estos estudios apoyan la idea de que todos aquellos compuestos que pasaron hasta el segundo criterio tienen mayor posibilidad de ser encontrados en las semillas de *Argemone* spp y en la sarcotesta de *Magnolia* spp.

El tercer criterio nos da un panorama general, según la bibliografía reportada, cuales tienen mayor potencial insecticida y que por consiguiente pueden ser bioactivos contra la mosca mexicana de la fruta. Las toxicidades de un compuesto pueden variar de manera considerable dentro de un mismo organismo dependiendo el estadio en el que se evalúe. Como en el caso del γ -terpineno la DL_{50} (24 h) en huevos de palomilla de la papa (*Phthorimaea operculella*) fue de 2.75 mg/L de aire mientras que la DL_{50} (24 h) en adultos fue de 5.98 mg/L de aire (Wu, *et al* 2020). Por esto, el criterio número tres solo da prioridad a aquellos que estén evaluados en fase adulta, ya que los extractos se evaluaron en el adulto de *A. ludens*. Además, que la selección se comportaría homogénea.

Sin embargo, de acuerdo con los resultados encontrados que se muestran en la Tabla 4.4 la gran mayoría de los compuestos de *Argemone* spp fueron evaluados en fase larvaria y muy pocos tuvieron evaluaciones en estado adulto. Debido a esto, las selecciones en el tercer criterio para este género fueron realizadas con efectividades obtenidas de larvas. Aquí se justifica que, por la falta de suficientes evidencias que evalúen la toxicidad de los compuestos en insectos adultos, la selección incluyó evaluaciones en estado larvario.

Para discriminar entre las efectividades insecticidas de los compuestos se compararon las DL_{50} , DL_{90} o % de mortalidad. Como estas medidas son dependientes del tiempo, los compuestos se ordenaron de menor a mayor tomando en cuenta su concentración y también, el tiempo de exposición. Díaz *et al* (2013) sugiere que una solución práctica para cuando las efectividades varían es común utilizar el mismo tiempo de exposición para

facilitar las comparaciones. Sin embargo, eso ignoraría la información de otros tiempos de exposición en nuestros datos.

Por ello, efectividades con concentraciones más bajas y tiempos de exposición más cortos sugiere que el compuesto es más tóxico en comparación con efectividades donde las concentraciones son más altas y los tiempos de exposición más largos. Por lo tanto, según las bases acordadas en el criterio número tres los compuestos con mayor efectividad insecticida en *Argemone* spp son 9, 6, 5, 1 y 8; y para *Magnolia* spp son 53, 12, 47, 15, 11, 8, 14, 20, 5 y 1.

La comparación de las efectividades de dichos compuestos con las cinco categorías de toxicidad aguda establecidas por el Anexo Normativo 1 (Toscano, 2009) de la Norma Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009 siendo la primera categoría para sustancias muy tóxicas hasta la quinta categoría para sustancias menos tóxicas, resulta en lo siguiente. Al categorizar los compuestos de *Argemone* spp, el 9 y 6 pertenecen a la 1ra categoría de toxicidad por contacto; y los compuestos 5, 1 y 8 pertenecen a la 2da categoría de toxicidad por contacto. Y con respecto a los compuestos de *Magnolia* spp, el 53 pertenece a la 1ra categoría de toxicidad por fumigación, el 47 a la 1ra categoría de toxicidad por contacto, el 12 a la 2da categoría de toxicidad por fumigación; 15, 11, 8 y 14 pertenecen a la 3ra categoría de toxicidad por fumigación; y 14, 20, 5 y 1 pertenecen a la 4ta categoría de toxicidad por fumigación. Estas comparaciones ofrecen un panorama general de que tan tóxicos son los compuestos con base en las efectividades reportadas.

En la mayoría de las situaciones, en los estudios de análisis de extractos botánicos con potencial insecticida, se comprueba que dicho potencial se debe principalmente a sus mayores constituyentes. Como así demuestra la investigación de Ali *et al* (2013), el aceite esencial de Geranio Rosa (*Pelargonium* spp) mostró efectos larvicidas en *A. aegypti*, y sus mayores constituyentes, citronelol (50.9%) y formiato de citronelilo (13.3%) tuvieron los efectos larvicidas más altos en el mosquito (DL₅₀ 49.9 y 100 ppm, respectivamente).

Aunque no siempre los mayores constituyentes son los responsables de la bioactividad. En el estudio de Wang *et al* (2016) el 2,4-di-tert-butilfenol (2.43%) y el nerolidol (2.18%) mostraron poseer la mayor actividad larvicida contra *Culex pipiens pallens* de todos los componentes obtenidos del extracto, aun cuando el β -cariofileno (18.89%) y el α -humuleno (5.15%) eran los constituyentes de mayor composición. Aunque esto no significa que no se involucren en la actividad insecticida.

De esta forma conocer los porcentajes de composición que tuvieron los compuestos encontrados en este estudio de revisión es importante en la selección. Además, la consideración de este último criterio le da aleatoriedad a la selección y como tal establece el orden en el que serán evaluados. En resumen, en el género *Argemone*, los compuestos candidatos seleccionados fueron los alcaloides 6, 9, 5, 8, 1, 2, 7 y 4; y los flavonoides 28 y 29. En el caso de *Magnolia*, los compuestos candidatos son los monoterpenos, 10, 11, 7, 5, 12, 3, 8 y 14; y sesquiterpenos 37, 53, 63 y 47.

Se ha descrito que la biosíntesis de benzofenantridinas ocurre en especies de las familias Papaveraceae, Fumariaceae y Berberidaceae (Facchini, *et al* 1996). A la fecha se conoce que *Macleaya cordata* es la primera especie de Papaveraceae en tener su genoma completamente secuenciado, el cual brinda muchas ventajas para estudiar genes que codifican enzimas involucradas en la síntesis de alcaloides con importantes funciones biológicas (Liu, *et al* 2017).

La enzima de puente de berberina (BBE) es considerada una de las enzimas más esenciales en la biosíntesis de alcaloides de benzofenantridinas. Dicha enzima canaliza su sustrato a la formación de 6, 9, 5, 8, 1, 2, 7, 4 (Figura 4.12). La BBE cataliza la transformación estereoespecífica del grupo N-metilo de la (S)-reticulina al carbono C-8 para el puente de berberina de la (S)-scoulerina (Winkler, *et al* 2008; Daniel, *et al* 2017). Dittrich & Kutchan (1991) elicitaron cultivos celulares de *Eschscholtzia californica* con *Saccharomyces cerevisiae* para observar los niveles de expresión de BBE. Los blots de RNA hibridado revelaron un notable incremento en los niveles de ARN de BBE que precedió por una acumulación de alcaloides de benzofenantridina. El cual sugiere su importante participación en la defensa vegetal contra patógenos.

En los estudios de Yahyazadeh *et al* (2017) y Díaz Chávez (2009) se logró clonar y caracterizar las enzimas queilantifolina sintasa (CHS) y la estilopina sintasa (STS) de *Chelidonium majus* y *Argemone mexicana*, respectivamente. Yahyazadeh *et al* (2017) observaron que una gran parte de la estilopina se destinaba a la síntesis espontánea de dihidrocopsitina mientras que en concentraciones menores se sintetizaba 5, 1 y 6. Paulsen *et al* (2015) ha sugerido que la dihidrocopsitina se forma bajo condiciones ácidas en la vacuola y cuando este organelo sufre una ruptura la dihidrocopsitina se libera y sufre una oxidación espontánea formándose copsitina. En especies de *Argemone* la copsitina se forma en concentraciones inferiores a las concentraciones de los alcaloides 6, 1, 2 y 9

(Fletcher, *et al* 1993). Se puede inferir que la síntesis de las diferentes benzofenantridinas puede depender de las necesidades y adaptaciones de la planta.

En otra investigación se estudió el efecto elicitor del jasmonato (JM) y el ácido salicílico (SA) sobre los niveles de biosíntesis de 6 y 8. Sus análisis demostraron que el efecto elicitor del JM fue el que indujo una mayor síntesis de 6 y 8 (10 a 14 veces). También encontraron que los niveles de expresión de los genes que codifican para protopina-6-hidroxilasa (P6H) y dihidrobenzofenantridina oxidasa (DBOX) fueron altamente expresados (Huang, *et al* 2021). Esto sugiere que la presencia de factores que indican estrés biótico como el JA, induce respuesta en la biosíntesis de benzofenantridinas para la defensa vegetal.

Ensayos enzimáticos sostienen que la tetrahidroprotoberberina cis-N-metiltransferasa (TNMT) es específica para los sustratos (S)-estilopina y (S)-canadina (Liscombe & Facchini, 2007); y que la (S)-cis-N-metilestilopina 14'-hidroxilasa (MSH) es solamente específica para los sustratos N-metilestilopina y N-metilcanadina, produciendo 5 y 4, respectivamente, ambas enzimas aisladas de *Papaver somniferum* (Beaudoin & Facchini, 2013). Beaudoin & Facchini (2013) indicaron que las eficiencias de reacción fueron de 9.8% para la conversión de N-metilcanadina a 4 y de 6,5% para la conversión de N-metilestilopina a 5. Sin embargo, a pesar de que la MSH prefirió a la N-metilcanadina como sustrato, 4 es menos abundante que la protopina en el latex de *P. somniferum*. Esto es congruente a los resultados encontrados de que el compuesto 5 es más abundante en especies de *Argemone* que la allocriptopina.

Se distingue que en la ruta de biosíntesis de berberina la enzima (S)-canadina sintasa (CAS) de células de *Thalictrum tuberosum* resultó ser muy específica de la tetrahidrocolumbamina, la cual cataliza la formación del puente de metilendioxi (Rueffer & Zenk, 1994). De igual modo, la enzima (S)-tetrahidroprotoberberina oxidasa (STOX) aislada de *Berberis wilsonia* exhibió estricta especificidad en enantiómeros (S)-tetrahidroprotoberberinas como la (S)-canadina donde genera una deshidrogenación específica que da origen al compuesto 9 (Amann, *et al* 1988). Dicha enzima también fue aislada de *A. mexicana* y sobreexpresada en células de insecto (Gesell, *et al* 2011).

La chalcona sintasa (CHS) es una de las enzimas claves en la biosíntesis de flavonoides. Es una enzima única para plantas y es una de la más reguladas. Se le identifica como guardiana o portera de la ruta, en algunos sistemas la reacción que cataliza es un paso

limitante en la tasa de biosíntesis de flavonoides (Dao, *et al* 2011; Martin, 1993). La CHS de *Argemone* spp aún no se ha caracterizado y tampoco se encontraron suficientes estudios que referencien a la luteolina y el eriodictiol como metabolitos importantes durante la herbivoría, pero los siguientes experimentos muestran que en general la participación de flavonoides en la defensa vegetal es importante.

Fueron infectadas células de parénquima de floema de *Picea abies* con *Ceratocystis polonica*. Se observó que hubo un incremento dramático en el contenido de polifenoles y se verificó que los niveles transcripcionales de la CHS también fueron muy elevados lo cual sugiere su importante participación en la síntesis de compuestos para la defensa de las plantas (Nagy, *et al* 2004).

La chalcona isomerasa (CHI) es otra enzima fundamental en la síntesis de flavonoides estrictamente necesaria para la conversión de chalconas a (s)-naringeninas. En plantas de *Solanum lycopersicum* se identificó una isoforma de CHI a la cual se le denominó SlCHI1. Dicho gen fue sobreexpresado en plantas de *S. lycopersicum* deficientes de antocianinas que además fallaron en la síntesis de flavonoides y terpenoides y fueron sensibles a coleópteros herbívoros en campo. La expresión del transgén no solo complementó la deficiencia de flavonoides y antocianinas, sino también de terpenoides. Se cree que existe un vínculo estrecho entre la síntesis de terpenoides y la SlCHI1, destacando su importante trabajo cuando existe daño por herbivoría (Kang, *et al* 2014).

Otro estudio demostró que el contacto de *Colletotrichum sublineolum* en plántulas de sorgo genera un aumento en la producción de luteolina. Posteriormente se identificó el gen responsable de la biosíntesis de la flavona y resultó ser una flavona sintasa II, a la cual se le denominó SbfNSII (Du, *et al* 2010).

La distribución de monoterpenos y sesquiterpenos es muy amplia entre los diferentes grupos taxonómicos del reino vegetal y su estudio e identificación dentro de *Magnolia* spp ha sido bien reportado. Sin embargo, la investigación de terpenos sintasas (TPSs) en el género es bastante pobre. Interesantemente, en *M. grandiflora* fueron identificadas tres genes que codifican para TPSs. El gen Mg25 y el Mg11 resultaron ser sesquiterpenos sintasas (TPS-a), en donde la Mg25 convierte el farnesil pirofosfato en β -cubeneno mientras que al Mg11 no se le logró identificar su actividad. La tercer TPSs identificada fue la Mg17, que resultó ser una monoterpeno sintasa (TPS-b), la cual transformó el geranil pirofosfato a α -terpineol (Lee & Chappell, 2008).

Recientemente, se llevó a cabo la secuenciación completa del genoma de *M. biondii*, el cual podría ayudar a facilitar la identificación de grupos de genes implicados en la biosíntesis de terpenos en otras especies de *Magnolia* (Dong, *et al* 2021). Además, un estudio publicó por primera vez un análisis de transcriptoma completo y de metaboloma de las flores de *M. champaca*, con el principal objetivo de ubicar y descubrir las principales rutas involucradas en la síntesis de compuestos orgánicos volátiles (terpenos, fenilpropanoides y ésteres volátiles), cuya información también puede servir para identificar rutas metabólicas en otras especies de *Magnolia* (Dhandapani, *et al* 2017).

Debido a la naturaleza de los mecanismos de reacción de las TPSs, que involucran la formación de carbocationes altamente reactivos, estas son capaces de tener una amplia especificidad y originar varios terpenos (Degenhardt, *et al* 2009). En el trabajo de Martin & Bohlmann, (2004) identificaron y clonaron dos (-)- α -terpineol sintasa de *Vitis vinifera* cuyos perfiles de productos fueron (-)- α -terpineol (50.1%), 1,8-cineol (11.8%), y (+)- β -pineno (8.5%); y en concentraciones más bajas (-)- α -tujeno, (-)- α -pineno, mirceno, sabineno, (-)- β -pineno, (-)-limoneno, terpinoleno, (-)-trans-sabineno, (+)-cis-sabineno, (-)-cis-sabineno y (+)- α -terpineol. Se puede inferir que estos mecanismos no exentan a las TPSs que puedan existir en *Magnolia* spp. Asimismo, esto puede explicar por qué los terpenos fueron el grupo más diverso de todos los grupos químicos identificados en *Magnolia*.

Por otro lado, ha sido bien reportado que la presencia y daño causado por patógenos y herbívoros (insectos) en las plantas genera cambios dramáticos en la composición de terpenoides en sus diferentes partes anatómicas (Casano, *et al* 2010). De acuerdo con Raz *et al* (2020) la composición de las mezclas de compuestos terpénicos producidos dependerá exclusivamente de la distribución de las terpeno sintasas (TPSs) y de las herramientas que hayan adoptado para lograr el o los productos correctos. Por ejemplo, cuando las raíces de *Populus trichocarpa* y *P. nigra* fueron dañadas por *Melolontha melolonta* las concentraciones basales de α -pineno, camfeno, β -pineno y 1,8-cineol incrementaron considerablemente y se observó una sobreexpresión de los genes TPS21 (*P. trichocarpa*) y TPS4 (*P. nigra*) que codifican para enzimas con la misma actividad cuyos productos fueron camfeno, α -pineno, β -pineno y limoneno (Lackus, *et al* 2018).

Recientemente ha surgido interés sobre el origen y significado de que las estructuras como el fruto y semilla alberguen metabolitos secundarios. Los estudios son muy pocos y esta

área de investigación se encuentra en sus inicios (Borges, 2015; Whitehead, *et al* 2021). De igual manera, existen pocos estudios que sustenten si en semillas duras como las de *Argemone* spp y en las carnosidades de las semillas como la sarcotesta de *Magnolia* spp existe la capacidad de experimentar un cambio metabólico en la síntesis de metabolitos secundarios cuando son atacadas por un depredador o si realmente los metabolitos secundarios se sintetizaron previamente y se encuentran de manera constante en concentraciones fijas, entonces cuando enfrentan herbivoría no hay ningún cambio en la síntesis. Es posible que durante los diferentes estados de maduración de dichas estructuras se expresen diferentes enzimas que logren biosintetizar diferentes perfiles de compuestos naturales, pero aún no hay estudios al respecto.

Shivanandappa & Rajashekar (2014) afirman que para una mayor comprensión de cómo ejerce su toxicidad un compuesto se requiere conocimiento de cómo afecta un sitio objetivo específico dentro de un organismo, a la cual se le conoce como modo de acción. Los estudios que reportan el modo de acción de los compuestos candidatos, en su gran mayoría, describen un modo de acción por inhibición enzimática, así como también lo predice el análisis *in silico* con la sanguinarina, berberina, cospitina, dihidroqueleritrina, eriodictiol, luteolina, óxido de cariofileno, (E)-nerolidol y β -selineno. Aunque otros modos de acción reportados son por unión a las membranas celulares y al DNA, tal vez por esto gran parte de los compuestos candidatos no mostraron aptitud para interactuar con otros objetivos como ligandos de GPCR, inhibición de cinasas o de proteasas en el ensayo bioinformático.

En cuanto a los alcaloides, son moléculas que usualmente contienen nitrógeno cargado positivamente que les permite formar enlaces iónicos con moléculas que tengan carga negativa, como los grupos fosfato del DNA o los aminoácidos glutamato o aspartato de las proteínas. Esto explica por qué alcaloides como la sanguinarina, berberina y la queleritrina son capaces de intercalarse en el DNA e impedir funciones vitales como la replicación; y en general unirse a diversas proteínas que tengan aspartato o glutamato.

De acuerdo con Wink (2008), los alcaloides pueden interferir en sitios objetivos particulares que están presentes en animales, pero no en las plantas, como el sistema nervioso o el sistema endócrino. Al igual que los alcaloides, muchos neurotransmisores provienen de aminoácidos, por lo que se cree que los alcaloides evolutivamente los

mimetizaron para ser sustratos de sus proteínas receptoras, y por lo tanto lograr ejercer sus efectos neurotóxicos, como se describió con la berberina y la protopina.

Adicionalmente, los alcaloides pueden tener interacciones no específicas por la presencia de diferentes grupos funcionales que pueden favorecer a potenciar su actividad. Entre los grupos funcionales más destacados de los alcaloides candidatos son los epóxidos, los cuales pueden reaccionar con los aminoácidos de las proteínas y modular su conformación, así como su función biológica. Otro tipo de interacción que puede ocurrir son las interacciones hidrofóbicas por la presencia de los anillos bencénicos.

En el caso de la dihidrosanguinarina y la dihidroqueleritrina carecen de suficiente información que describa cuáles son sus posibles modos de acción. En este estudio, la predicción de sus modos de acción, mediante predicción virtual, obtuvo puntajes no significativos. Se sugiere que estos compuestos carecen de efectividad insecticida en la mayoría de las situaciones porque son compuestos de detoxificación que se obtienen a partir de la sanguinarina y queleritrina.

Igualmente, en cuanto a los flavonoides luteolina y eriodictiol, la información disponible acerca de sus modos de toxicidad es insuficiente. No obstante, los compuestos han mostrado poseer actividad contra insectos, por lo tanto, cabe la posibilidad que exista un modo de acción por el cual ejerzan su efecto como se predijo en el estudio *in silico*.

Referente a los mono- y sesquiterpenos, estos pueden ser obtenidos en los aceites esenciales (EOs) y muchos estudios demuestran su modo de acción en conjunto y no por cada constituyente químico (Loza-Tavera, 1999). Entre los efectos reportados está la permeabilización de la membrana, lisis celular, coagulación del contenido citoplasmático, inhibición de la actividad respiratoria, desequilibrio del pH, disminución de los niveles de ATP, despolarización de la membrana y cambios morfológicos en la célula (Cui, *et al* 2019; Hyldgaard, *et al* 2012; Pellegrini, *et al* 2017).

Según Wink (2008) los terpenos son sustancias lipofílicas y por ello sus principales objetivos tienden a ser de la misma naturaleza. Interaccionan con moléculas hidrofóbicas de la célula como lo son, las membranas celulares y los centros hidrofóbicos de las proteínas. Tales interacciones conducen a cambios conformacionales e inactivación de proteínas. Por lo tanto, esto explica por qué los compuestos 11, 7, 12, 3, 14, 53 y 63 de *Magnolia spp* causan daño directo o indirecto sobre las membranas celulares. Y con relación al análisis *in silico* casi todos los terpenos no polares candidatos tuvieron puntajes

muy bajos (10, 11, 7, 5, 12, 3, 8 y 14) en los cinco objetivos examinados y es muy probable que se deba a su carácter hidrofílico y prefieran interactuar con estructuras como las membranas biológicas.

Los aceites esenciales tienen efectos neurotóxicos al producir la inhibición de la acetilcolinesterasa, receptores GABA y receptores de octopamina (Jankowska, *et al* 2018). La inhalación del EO de rizoma de *Acorus gramineus* en ratones de 8 semanas provocó la inhibición del ácido γ -aminobutírico transaminasa (receptor GABA) y por consiguiente se incrementaron significativamente los niveles de GABA y se disminuyó la concentración de glutamato (Koo, *et al* 2003). Esto coincide ampliamente con los efectos inhibitorios de los terpenos candidatos 10, 7, 3, 8, 14, 37 y 63 en enzimas del tejido nervioso.

Se ha reportado que los EOs causan la inhibición de enzimas digestivas y enzimas mitocondriales. La actividad larvicida del aceite esencial de *Teucrium polium* tuvo efectos perjudiciales en el epitelio intestinal de *M. domestica*. El estudio demostró que el EO causó disminución de la actividad de la proteinasa, la captosina B y L, la α -amilasa, la α -glucosidasa y la β -glucosidasa (Bigham, *et al* 2010). Los efectos inhibitorios del EO de *Salvia officinalis* (1,8-cineol y α -tujona mayores constituyentes) en *A. aegypti* sugiere que impide el paso de electrones a la cadena respiratoria. Los ensayos enzimáticos mostraron una disminución en la actividad enzimática del complejo II (succinato deshidrogenasa; Castillo-Morales, *et al* 2019). Estos hallazgos también son concordantes con los resultados bibliográficos de los terpenos candidatos 11, 5, 12, 3, 8 y 53.

Otros modos de acción de los EO comúnmente reportados es la inhibición de enzimas involucradas en el metabolismo de xenobióticos, principalmente el complejo enzimático P450 (CYP). Zehetner *et al* (2019) afirmaron que los constituyentes de un EO pueden influenciar la actividad de las CYP generando efectos adversos. Sin embargo, la evaluación de como interacciona la mezcla de estos químicos resulta muy difícil. Gaire y colaboradores (2021) reportaron que los EOs (aceite de tomillo, orégano, geranio, cilantro) potencian los efectos tóxicos de la deltametrina en chinches de cama (*Cimex lectularius*) resistentes a piretroides al inhibir enzimas destoxicantes del citocromo P450. Esto justifica porqué los terpenos candidatos 5, 37, 53 y 63 han ejercido actividad inhibitoria en enzimas CYP.

Por ello, Rattan, (2010) argumenta que los efectos causados por un EO son resultado de un trabajo colaborativo de todos sus constituyentes y que es difícil discernir cual es más activo que otro, ya que es probable que los compuestos actúen de manera sinérgica. En el caso del estudio de Andrés *et al* (2017), sus resultados mostraron que el safrol mejora los efectos antialimentarios del terpinoleno, siendo ambos del aceite esencial de *Piper hispidinervum*, que mostró previa actividad antialimentaria.

Finalmente, en este estudio bibliográfico se propuso una metodología de investigación, de la cual lo más esencial es la evaluación de los compuestos candidatos, su determinación por TLC y el análisis de los extractos botánicos. Como dichos extractos fueron elaborados de semillas de *A. ochroleuca* y de sarcotesta de *M. vovidesii*, el correcto estado fenológico para la colecta del material vegetativo es durante la maduración de fruto. Siendo además los extractos de estas estructuras los más efectivos contra *A. ludens* de todas las partes anatómicas de cada especie de acuerdo con Flores-Estévez *et al* (2013).

La preparación preliminar de la muestra permitirá almacenarla por más tiempo y minimizar cambios metabólicos en el contenido de compuestos. Mientras que la extracción por maceración bajo las mismas condiciones permitirá obtener replicas fieles de los constituyentes en los extractos para cualquier experimento posterior y de esta manera los resultados podrán ser reproducibles en cualquier momento.

Si durante la detección cualitativa de fitoquímicos en los extractos resulta la presencia de terpenoides, esteroides, flavonoides, fenoles y alcaloides existirá mayor confiabilidad de realizar los experimentos de análisis químicos. Se sugiere la identificación cualitativa de estos grupos principalmente porque los compuestos candidatos pertenecen a estos. No obstante, es posible la identificación de otros grupos más específicos como las saponinas o taninos.

Stashenko & Martínez (2011) manifiestan que no hay ninguna técnica instrumental completamente universal que contenga todas las habilidades de separar, cuantificar, detectar o identificar inequívocamente todos los analitos presentes en una mezcla compleja. Y mucho menos existe una técnica instrumental capaz de hacer todo directamente sin hacer tratamiento previo de la muestra cómo llevar a cabo los procesos de extracción, concentración, fraccionamiento o limpieza del extracto.

A esto, es que, se ha sugerido un análisis de los extractos con metodologías separadas enfocadas a ciertos grupos de compuestos químicos. Haciendo énfasis en los terpenos,

fenoles y alcaloides. La metodología está diseñada para aprovechar la identificación de los compuestos candidatos en TLC y al mismo tiempo realizar bioensayos de actividad insecticida de las fracciones y analizar aquellas que resulten con compuestos Hits.

Una separación y análisis de los compuestos candidatos por TLC es adecuado cuando las concentraciones de los analitos son suficientes para detectarse. De lo contrario, la técnica no es sensible y corre el riesgo de invertirse recurso y tiempo en el experimento. Aunque esto se puede prevenir conociendo en que concentraciones se encuentra el analito y entonces habría que utilizar posiblemente más cantidad de muestra.

De forma alternativa a la evaluación de fracciones en la plaga, se puede juntar todo el eluyente de la cromatografía de columna en un solo contenedor, concentrarlo y pasarlo a analizar directamente por la técnica hifenada que se haya elegido. Posteriormente a los compuestos de mayor porcentaje se les realizan bioensayos de toxicidad contra *A. ludens*. Para mayor seguridad, es recomendable adquirir puros los compuestos y evaluarlos, ya que si se evalúan aislados de las fracciones se corre el peligro que no estén lo suficientemente puros y se genere ruido en los resultados.

Un aspecto muy importante que destacar es que los mono- y sesquiterpenos seleccionados son en cierto grado volátiles, por lo que otra forma de evaluarlos en la mosca es por fumigación. Entonces, es posible comparar la efectividad entre una exposición por ingestión y una exposición por fumigación. Acerca de los controles, el piretro es un extracto botánico al cual se le ha demostrado su gran efectividad en contra de *A. ludens*, debido a la presencia de ésteres de piretrinas (Vásquez-Morales, *et al* 2015).

CAPITULO VI

6.1. Conclusiones

El total de compuestos reportados de la semilla de *Argemone* spp provienen del 7% del total de especies que abarca el género (4 de 55) y pertenecen al grupo de lípidos (ácidos grasos), alcaloides y fenoles (flavonoides). Mientras que los compuestos reportados de la sarcotesta de *Magnolia* spp provienen de aproximadamente el 2% del total de especies (5 de 312) y pertenecen al grupo de los terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos), fenoles, alcaloides y lípidos (ácidos grasos).

De manera comparativa, la cantidad de compuestos que puede llegar a albergar una sarcotesta de *Magnolia* spp es mucho mayor que la cantidad de compuestos que puede llegar a contener una semilla de *Argemone* spp. Pero a pesar de que el número de fitoquímicos aislados de sarcotesta de magnolias es relativamente grande, la investigación en estas estructuras vegetativas es muy escasa, considerando el número de miembros que conforman el género. Su estudio permitiría conocerlas más y evitar su declinación poblacional. En el caso de las semillas de *Argemone* spp, son muy exploradas por la presencia de alcaloides, aunque también vale la pena mencionar que existen pocas especies estudiadas en cuanto a dicha estructura vegetativa.

La presencia de terpenos, fenoles y alcaloides en semillas y sarcotesta de *Argemone* spp y *Magnolia* spp (respectivamente) permite la defensa y protección del embrión contra depredadores y que, por lo tanto, es digno mencionar que son los mayores representantes involucrados en la actividad biocida de los extractos etanólicos de semilla *Argemone* spp y *Magnolia* spp contra la mosca mexicana de la fruta *A. ludes* aceptando la hipótesis nula.

La comprensión y manejo de las rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios puede permitir su manipulación y regulación para potenciar la biosíntesis de los compuestos candidatos, considerando que la presencia de fitopatógenos y fitófagos favorecen la expresión de enzimas y la producción de compuestos naturales. Se distingue que las enzimas que biosintetizan los compuestos candidatos de *Argemone* spp son más específicas con sus sustratos en comparación con las enzimas que biosintetizan los compuestos candidatos de *Magnolia* spp. Los compuestos candidatos resultaron poseer múltiples sitios de acción debido principalmente a sus propiedades moleculares. Sugiriendo en general, un modo de acción inespecífico en insectos como *A. ludeus*.

Finalmente, con fundamento de la investigación bibliográfica realizada en este estudio los compuestos candidatos poseen el potencial para actuar como moléculas biocidas en la mosca mexicana de la fruta *A. ludens* y que además podrían ser algunos de los responsables de la actividad insecticida que poseen los extractos etanólicos de las especies *A. ochroleuca* y *M. vovidesii*. Por las características y propiedades que poseen los compuestos naturales y extractos botánicos, proseguir con la investigación podría contribuir al mejoramiento del control químico que se utiliza para mitigar a la plaga *A. ludens* y asimismo la CNCMF sería más sostenible e integrada dentro de las actividades frutícolas al evitar el uso de insecticidas perjudiciales como el malatión.

6.2. Perspectivas

Como trabajo a futuro prioritario es lograr la caracterización química de los extractos de *A. ochroleuca* y *M. vovidesii*. Simultáneamente realizar la evaluación de los compuestos candidatos en *A. ludens*, así como demostrar su presencia en los extractos de semilla de la especie *A. ochroleuca* y de sarcotesta de la especie *M. vovidesii*. Debido a que es un requisito importante reportar la evaluación individual de constituyentes presentes en extractos que han presentado bioactividad. En un futuro, se recomienda que los extractos sean evaluados en campo para probar su efectividad con moscas de la fruta silvestres. Del mismo modo, probar su efectividad en mamíferos pequeños (ratas, ratones y conejos) y la entomofauna benéfica como polinizadores y enemigos naturales, y determinar el rango de biodegradabilidad de los compuestos químicos y los extractos botánicos.

REFERENCIAS

Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1987, 3(2), 302-303.

Abdelgaleil, S. A., Abou-Taleb, H. K., Al-Nagar, N. M., & Shawir, M. S. Antifeedant, growth regulatory and biochemical effects of terpenes and phenylpropenes

on *Spodoptera littoralis* Boisduval. International Journal of Tropical Insect Science, 2020, 1-11.

Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Badawy, M. E., & El-arami, S. A. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. Journal of Chemical Ecology, 2009, 35(5), 518-525.

Abraham, D., Francischini, A. C., Pergo, E. M., Kelmer-Bracht, A. M., & Ishii-Iwamoto, E. L. Effects of α -pinene on the mitochondrial respiration of maize seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 2003, 41(11-12), 985-991.

Agroasemex. Las plagas producen pérdidas de hasta un 40 por ciento en la producción agrícola, revela estudio de la FAO, 2019. Consultado en julio de 2021. <https://www.gob.mx/agroasemex/articulos/las-plagas-producen-perdidas-de-hasta-un-40-por-ciento-en-la-produccion-agricola-revela-estudio-de-la-fao?idiom=es>

Agustí, M., & Fonfría, M. A. Fruticultura. Mundi-Prensa Libros, 2010.

Akampurira, D. Phytochemical investigation of *Zanthoxylum holstzianum* for antiplasmodial, larvicidal and antinociceptive principles. Doctoral dissertation, University of Nairobi, 2013.

Akash, M. S. H., & Rehman, K. Essentials of pharmaceutical analysis. Springer, 2020.

Aldridge W. N., Miles J. W., Mount D. L., Verschoyle R. D. The toxicological properties of impurities in malathion. Archives of Toxicology, 1979, 8;42(2):95-106.

Ali, A., Tabanca, N., Demirci, B., Raman, V., Budel, J. M., Baser, K., & Khan, I. A. Insecticidal and biting deterrent activities of *Magnolia grandiflora* essential oils and selected pure compounds against *Aedes aegypti*. Molecules, 2020, 25(6), 1359.

Al-Nagar, N. M. A., Abou-Taleb, H. K., Shawir, M. S., & Abdelgaleil, S. A. M. Comparative toxicity, growth inhibitory and biochemical effects of terpenes and phenylpropenes on *Spodoptera littoralis* (Boisd.). Journal of Asia-Pacific Entomology, 2019.

Alonso, L., Fernandes, K. S., Mendanha, S. A., Gonçalves, P. J., Gomes, R. S., Dorta, M. L., & Alonso, A. In vitro antileishmanial and cytotoxic activities of nerolidol

are associated with changes in plasma membrane dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2019, 1861(6), 1049-1056.

Alshebly, M. M., Alqahtani, F. S., Govindarajan, M., Gopinath, K., Vijayan, P., & Benelli, G. Toxicity of ar-curcumene and epi- β -bisabolol from *Hedychium larsenii* (Zingiberaceae) essential oil on malaria, chikungunya, and St. Louis encephalitis mosquito vectors. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 2017, 137, 149-157.

Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. *Biodiversidad y manejo de plagas en agroecosistemas (Vol. 2)*. Icaria Editorial, 2007.

Aluja, M., & Mangan, R. L. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. *Annual Review Entomology*, 2008, 53, 473-502.

Aluja, M., & Norrbom, A. *Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior*. CRC Press, 1999.

Aluja, M., & Liedo, P. *Fruit flies: biology and management*. Springer Science & Business Media, 2013.

Amann, M., Nagakura, N., & Zenk, M. H. Purification and properties of (S)-tetrahydroprotoberberine oxidase from suspension-cultured cells of *Berberis wilsoniae*. *European Journal of Biochemistry*, 1988, 175(1), 17-25.

ANAJALSA. Ficha técnica de malatión 1000. RSCO-INAC-0143-008-009-089, 2021. Consultado de https://www.anajalsa.com.mx/pdf/ficha_23.pdf

Andrés, M. F., Rossa, G. E., Cassel, E., Vargas, R. M. F., Santana, O., Díaz, C. E., & González-Coloma, A. Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 109, 1086-1092.

Angelo, A. J., & Ory, R. L. Lipid degradation during seed deterioration. *Phytopathology*, 1983, 73(2).

Aniszewski, T. *Alkaloids: chemistry, biology, ecology, and applications*. Elsevier, 2015.

ANMAT. DI-2018-3320-APN-ANMAT#MS. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Boletín Nacional, 2018. Consultado de http://www.anmat.gov.ar/boletin_anmat/abril_2018/Dispo_3320-18.pdf

Aparicio-Ruiz, R., García-González, D. L., Morales, M. T., Lobo-Prieto, A., & Romero, I. Comparison of two analytical methods validated for the determination of volatile compounds in virgin olive oil: GC-FID vs GC-MS. *Talanta*, 2018, 187, 133-141.

Arias, A. D. L. TLCAN, agricultura y pobreza en México: ¿el dinamismo del cultivo de frutas y hortalizas frescas ha contribuido a disminuir la pobreza rural? *Carta Económica Regional*, 2010, (106).

Arnason, J. T., Guèrin, B., Kraml, M. M., Mehta, B., Redmond, R. W., & Scaiano, J. C. Phototoxic and photochemical properties of sanguinarine. *Photochemistry and Photobiology*, 1992 55(1), 35–38.

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. Natural products in drug discovery: Advances and opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 1-17.

Atkinson, R. G. Phenylpropenes: Occurrence, distribution, and biosynthesis in fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 66(10), 2259-2272.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Division of Toxicology and Human Health Sciences, 2016. Consultado de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs154.html

Augusta University. NMR sample preparation, undated. Consulted in <https://www.augusta.edu/scimath/chemistryandphysics/analysis-facility/nmr-sample-preparation-guidelines.pdf>

Avella, E. Preparación de muestras para Resonancia Magnética Nuclear. *Gripo de Física Nuclear*. Universidad Nacional de Colombia, sin fecha. Consultada en mayo 2021. web: http://gfnun.unal.edu.co/fileadmin/content/gruposdeinvestigacion/estudiouaprovechamientodeproductosnaturalesmarinosyfrutasdecolombia/documentos/preparacion_de_muestras_RMN.pdf

Azcón-Bieto & Talón. Capítulo 17: Introducción al metabolismo secundario. En Fundamentos de Fisiología Vegetal (2da Ed.) McGRAW-HILL - Interamericana De España, S. L., 2013, 326-340.

Badii, M., Landeros, J., & Cerda, E. Manejo Sustentable de Plagas o Manejo Integral de Plagas: Un apoyo al desarrollo sustentable. Cultura Científica y Tecnológica, 2015, (23).

Badr, A. M. Organophosphate toxicity: updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. Environmental Science & Pollution Research, 2020, 27(21).

Bahabadi, S. E., Sharifi, M., Safaie, N., Murata, J., Yamagaki, T., & Satake, H. Increased lignan biosynthesis in the suspension cultures of *Linum album* by fungal extracts. Plant Biotechnology Reports, 2011, 5(4), 367-373.

Barros, L. F., Ehrenfried, C. A., Riva, D., Barison, A., de Mello-Silva, R., & Stefanello, M. E. A. Essential oil and other constituents from *Magnolia ovata* fruit. Natural Product Communications, 2012, 7(10), 1934578X1200701030.

Basu, P., Bhowmik, D., & Suresh Kumar, G. The benzophenanthridine alkaloid chelerythrine binds to DNA by intercalation: Photophysical aspects and thermodynamic results of iminium versus alkanolamine interaction. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2013, 129, 57–68.

Bateman, M. A. The ecology of fruit flies. Annual Review of Entomology, 1972, 17(1), 493-518.

Bauer, W., & Zenk, M. H. Two methylenedioxy bridge forming cytochrome P-450 dependent enzymes are involved in (S)-stylopine biosynthesis. Phytochemistry, 1991, 30(9), 2953-2961.

Bauman, A. J., & Yokoyama, H. *Magnolia* seed carotenoid pigments: Typical evolutionarily-static relicts? Journal of Theoretical Biology, 1975, 53(2), 277-284.

Beale, D. J., Pinu, F. R., Kouremenos, K. A., Poojary, M. M., Narayana, V. K., Boughton, B. A., ... & Dias, D. A. Review of recent developments in GC–MS approaches to metabolomics-based research. Metabolomics, 2018, 14(11), 1-31.

Beaudoin, G. A., & Facchini, P. J. Isolation and characterization of a cDNA encoding (S)-cis-N-methylstylopine 14-hydroxylase from opium poppy, a key enzyme in sanguinarine biosynthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2013, 431(3), 597-603.

Benelli, G., Govindarajan, M., Rajeswary, M., Vaseeharan, B., Alyahya, S. A., Alharbi, N. S., ... & Maggi, F. Insecticidal activity of camphene, zerumbone and α -humulene from *Cheilocostus speciosus* rhizome essential oil against the Old-World bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 148, 781-786.

Benelli, G., Pavela, R., Drenaggi, E., Desneux, N., & Maggi, F. Phytol, (E)-nerolidol and spathulenol from *Stevia rebaudiana* leaf essential oil as effective and eco-friendly botanical insecticides against *Metopolophium dirhodum*. *Industrial Crops and Products*, 2020, 155, 112844.

Beninger, C. W., Abou-Zaid, M. M., Kistner, A. L., Hallett, R. H., Iqbal, M. J., Grodzinski, B., & Hall, J. C. A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 30(3), 589-606.

Bentley, K. W. The isoquinoline alkaloids. In *Supplements to the 2nd Edition of Rodd's Chemistry of Carbon Compounds*. Elsevier, 1975, 259-348.

Berrones-Morales, M., Vanoye-Eligio, V., Coronado-Blanco, J. M., Gaona-Garcia, G., & Sanchez-Ramos, G. Species diversity of fruit flies (Diptera: Tephritidae) through different ecosystems in a Neotropical transition zone in Mexico. *Journal of Insect Conservation*, 2020, 24(1), 219-231.

Bhadra, K., Maiti, M., & Kumar, G. S. DNA-Binding Cytotoxic Alkaloids: DNA binding cytotoxic alkaloid: Comparative study of the energetics of binding of berberine, palmatine, and coralyne. *DNA and Cell Biology*, 2008, 27(12), 675–685.

Bhardwaj, A., Kumar Tewary, D., Kumar, R., Kumar, V., Kumar Sinha, A., & Shanker, A. Larvicidal and structure–activity studies of natural phenylpropanoids and their semisynthetic derivatives against the tobacco armyworm *Spodoptera litura* (FAB.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemistry & biodiversity*, 2010, 7(1), 168-177.

Bhardwaj, D. K., Bisht, M. S., Jain, R. K., & Munjal, A. Phenolics from the seeds of *Argemone mexicana*. *Phytochemistry*, 1982, 21(8), 2154-2156.

Bigham, M., Hosseininaveh, V., Nabavi, B., Talebi, K., & Esmaeilzadeh, N. S. Effects of essential oil from *Teucrium polium* on some digestive enzyme activities of *Musca domestica*. *Entomological Research*, 2010, 40(1), 37-45.

Boesewinkel, F. D., & Bouman, F. The seed: structure. In *Embryology of angiosperms*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1984, 567-610.

Bonesi, M., Menichini, F., Tundis, R., Loizzo, M. R., Conforti, F., Passalacqua, N. G., ... & Menichini, F. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of *Pinus* species essential oils and their constituents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2010, 25(5), 622-628.

Booth, J. K., Yuen, M. M., Jancsik, S., Madilao, L. L., Page, J. E., & Bohlmann, J. Terpene synthases and terpene variation in *Cannabis sativa*. *Plant Physiology*, 2020, 184(1), 130-147.

Borges, R. M. Fruit, and seed volatiles: multiple stage settings, actors, and props in an evolutionary play. *Journal of the Indian Institute of Science*, 2015, 95(1), 93-104.

Boulogne, I., Petit, P., Ozier-Lafontaine, H., Desfontaines, L., & Loranger-Merciris, G. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2012, 10(4), 325-347.

Bovey, F. A., Mirau, P. A., & Gutowsky, H. S. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. Elsevier, 1988.

Brader, G., Bacher, M., Hofer, O., & Greger, H. Prenylated phenylpropenes from *Coleonema pulchellum* with antimicrobial activity. *Phytochemistry*, 1997, 45(6), 1207-1212.

Broughton, W. J., Jabbouri, S., & Perret, X. Keys to symbiotic harmony. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(20), 5641-5652.

Brusca R. C., & Brusca G. J. Chapter 17. Phylum Arthropoda: the hexapoda (insects and their kin), In *Invertebrates (Second edition)*. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland Massachusetts 01375, 2003.

Bujdud León, A. N., Pereda Solís, M. E., Martínez Guerrero, J. H., & Guerrero Cervantes, M. Inhibición de la butirilcolinesterasa en el gorrión casero expuesto a malatión. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 2019, 35(4), 831-837.

CABI. Invasive Species Compendium. *Argemone ochroleuca* (pale Mexican prickly poppy), 2019. Consulted of <https://www.cabi.org/isc/datasheet/112405>

Cabral, M. M. O., Azambuja, P., Gottlieb, O. R., & Garcia, E. S. Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus*. *Fitoterapia*, 2000, 71(1), 1-9

Cabral, M. M. O., Barbosa-Filho, J. M., Maia, G. L. A., Chaves, M. C. O., Braga, M. V., De Souza, W., & Soares, R. O. A. Neolignans from plants in northeastern Brazil (Lauraceae) with activity against *Trypanosoma cruzi*. *Experimental Parasitology*, 2010, 124(3), 319-324.

Cabrera-Carrión, J. L., Jaramillo-Jaramillo, C., Dután-Torres, F., Cun-Carrión, J., García, P. A., & Rojas de Astudillo, L. Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. *Bioagro*, 2017, 29(1), 53-60.

Cai, T., Guo, Z. Q., Xu, X. Y., & Wu, Z. J. Recent (2000–2015) developments in the analysis of minor unknown natural products based on characteristic fragment information using LC–MS. *Mass Spectrometry Reviews*, 2018, 37(2), 202-216.

Cao, J. Q., Pang, X., Guo, S. S., Wang, Y., Geng, Z. F., Sang, Y. L., ... & Du, S. S. Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. Don display anti-insect activity on two stored-product insects. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2019, 140, 1-8.

Capinera, J. L. *Encyclopedia of entomology*. Springer Science & Business Media, 2008.

Cárdenas-Ortega, N. C., González-Chávez, M. M., Figueroa-Brito, R., Flores-Macías, A., Romo-Asunción, D., Martínez-González, D. E., ... & Ramos-López, M. A. Composition of the essential oil of *Salvia ballotiflora* (Lamiaceae) and its insecticidal activity. *Molecules*, 2015, 20(5), 8048-8059.

Carey, J. R., Liedo, P., Müller, H. G., Wang, J. L., Senturk, D., & Harshman, L. Biodemography of a long-lived tephritid: reproduction and longevity in a large cohort of female Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens*. *Experimental Gerontology*, 2005, 40(10), 793-800.

Casano, S., Grassi, G., Martini, V., & Michelozzi, M. Variations in terpene profiles of different strains of *Cannabis sativa* L. In XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): A New Look at Medicinal and 925, 2010, August, (pp. 115-121).

Celedonio-Hurtado, H., Liedo, P., Aluja, M., Guillen, J., Berrigan, D., & Carey, J. Demography of *Anastrepha ludens*, *A. obliqua* and *A. serpentina* (Diptera: Tephritidae) in Mexico. *Florida Entomologist*, 1988, 111-120.

Celis, A., Mendoza, C. F., & Pachón, M. E. Uso de extractos vegetales en el manejo integrado de plagas, enfermedades y arvenses: revisión. *Temas Agrarios*, 2009, 14(1), 5-16.

CENAPRECE. Lista de Productos Recomendados por el CENAPRECE para el combate de Insectos Vectores de Enfermedades a partir de 2018, 2018. Consultado de <https://www.gob.mx/salud/cenaprece/documentos/lista-de-productos-recomendados-por-el-cenaprece-2018>

Cervera, E., y Mendoza, S. Practica 3. Preparación de muestras para espectroscopía infrarroja. Departamento de Química Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México, sin fecha. Consultado de http://www.academicos.ccadet.unam.mx/josefina.elizalde/cursos_archivos/IR.pdf

Chaaban, A., Richardi, V. S., Carrer, A. R., Brum, J. S., Cipriano, R. R., Martins, C. E. N., ... Molento, M. B. Insecticide activity of *Curcuma longa* (leaves) essential oil and its major compound α -phellandrene against *Lucilia cuprina* larvae (Diptera: Calliphoridae): Histological and ultrastructural biomarkers assessment. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018.

Castillo-Morales, R. M., Otero, A. L. C., Mendez-Sanchez, S. C., Da Silva, M. A. N., Stashenko, E. E., & Duque, J. E. Mitochondrial affectation, DNA damage and AChE inhibition induced by *Salvia officinalis* essential oil on *Aedes aegypti* larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2019, 221, 29-37.

Chadwick, D. J., & Whelan, J. Secondary metabolites: their function and evolution. 2008.

Chan, W. K., Tan, L. T. H., Chan, K. G., Lee, L. H., & Goh, B. H. Nerolidol: a sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities. *Molecules*, 2016, 21(5), 529.

Chen, Y., Guo, Z., Wang, X., & Qiu, C. Sample preparation. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1184(1-2), 191-219.

Chen, Q., Yang, J., Gan, L., & Ninghua, W. U. Simultaneous determination of rutin, hyperin and quercetin in *Vicia Sepium* L. by RP-HPLC. *China Pharmacist*, 2015, (5), 861-862.

Cheng, Z., Jiang, J., Yang, X., Chu, H., Jin, M., Li, Y., ... & Wei, X. The research of genetic toxicity of β -phellandrene. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2017, 54, 28-33.

Choi, W. S., Park, B. S., Lee, Y. H., Yoon, H. Y., & Lee, S. E. Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. *Crop Protection*, 2006. 25(4), 398-401.

Christenson, L. D., & Foote, R. H. Biology of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, 1960, 5(1), 171-192.

Chun-mei, L. I. Bioactivity of sanguinarine against *Pieris rapae* L. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 31.

Chu, S. S., Jiang, G. H., & Liu, Z. L. Insecticidal compounds from the essential oil of Chinese medicinal herb *Atractylodes chinensis*. *Pest Management Science*, 2011, 67(10), 1253-1257.

CICOPLAFEST. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. Catálogo de Plaguicidas, 2004.

Clark, B. J., Frost, T., & Russell, M. A. UV Spectroscopy: Techniques, instrumentation, and data handling (Vol. 4). Springer Science & Business Media, 1993.

Coats, J. R. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Review of Entomology*, 1994, 39(1), 489-515.

COFEPRIS. Consulta de Registros Sanitarios de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y LMR, 2020. Consultado de <http://siipris03.cofepris.gob.mx/Resoluciones/Consultas/ConWebRegPlaguicida.asp>

CONABIO. Papaveraceae. *Argemone ochroleuca* Sweet. Chicalote pálido. 2021. Consultado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/papaveraceae/argemone-ochroleuca/fichas/ficha.htm>

Cong-Cong, X. U., Bing, W. A. N. G., Yi-Qiong, P. U., Jian-Sheng, T. A. O., & Zhang, T. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2017, 15(10), 721-731.

Cooks, R. G., Ouyang, Z., Takats, Z., & Wiseman, J. M. Ambient Mass Spectrometry. *Science*, 2006, 311(5767), 1566-1570.

Coskun, O. Separation techniques: chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 2016, 3(2), 156.

Cox, C. Pyrethrins/pyrethrum. *Journal of Pesticide rReform*, 2002, 22(1), 14-20.

Craker, L. E. *Plant alkaloids: a guide to their discovery and distribution*. Routledge, 2018.

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. Phenols, polyphenols, and tannins: an overview. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure, and role in the human diet*, 2006, 1.

Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, 2019, 139, 111498.

Culvenor, C. C. J., & Fitzgerald, J. S. A field method for alkaloid screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1963, 52(3), 303-304.

Custódio, J. B., Ribeiro, M. V., Silva, F. S., Machado, M., & Sousa, M. C. The essential oils component *p*-cymene induces proton leak through Fo-ATP synthase and uncoupling of mitochondrial respiration. *Journal of Experimental Pharmacology*, 2011, 3, 69.

Cutillo, F., D'Abrosca, B., DellaGreca, M., Fiorentino, A., & Zarrelli, A. Lignans and neolignans from *Brassica fruticulosa*: effects on seed germination and plant growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(21), 6165-6172.

Daniel, B., Konrad, B., Toplak, M., Lahham, M., Messenlehner, J., Winkler, A., & Macheroux, P. The family of berberine bridge enzyme-like enzymes: A treasure-trove of oxidative reactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2017, 632, 88-103.

Dao, T. T. H., Linthorst, H. J. M., & Verpoorte, R. Chalcone synthase and its functions in plant resistance. *Phytochemistry Reviews*, 2011, 10(3), 397-412.

Das, M., & Khanna, S. K. Clinicoepidemiological, toxicological, and safety evaluation studies on argemone oil. *Critical Reviews in Toxicology*, 1997, 27(3), 273-297.

Dass, C. *Fundamentals of contemporary mass spectrometry (Vol. 16)*. John Wiley & Sons, 2007.

Davin, L. B., & Lewis, N. G. Phenylpropanoid metabolism: biosynthesis of monolignols, lignans and neolignans, lignins and suberins. In *Phenolic metabolism in plants*. Springer, Boston, MA., 1992, 325-375.

Dean, J. R. *Extraction techniques in analytical sciences (Vol. 34)*. John Wiley & Sons, 2010.

Degenhardt, J., Köllner, T. G., & Gershenzon, J. Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 2009, 70(15-16), 1621-1637.

De Hoffmann, E. *Mass spectrometry*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2000.

De la Cruz Chacón, I., & González-Esquinca, A. R. Liriodenine alkaloid in *Annona diversifolia* during early development. *Natural Product Research*, 2012, 26(1), 42-49.

DellaGreca, M., Zuppolini, S., & Zarrelli, A. Isolation of lignans as seed germination and plant growth inhibitors from Mediterranean plants and chemical synthesis of some analogues. *Phytochemistry Reviews*, 2013, 12(4), 717-731.

de Llasera, M. G., & Bernal-González, M. Presence of carbamate pesticides in environmental waters from the northwest of Mexico: determination by liquid chromatography. *Water Research*, 2001, 35(8), 1933-1940.

de Macêdo Andrade, A. C., Rosalen, P. L., Freires, I. A., Scotti, L., Scotti, M. T., Aquino, S. G., & de Castro, R. D. Antifungal activity, mode of action, docking prediction and anti-biofilm effects of (+)- β -pinene enantiomers against *Candida* spp. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2018, 18(29), 2481-2490.

Deng, Z., Hassan, S., Rafiq, M., Li, H., He, Y., Cai, Y., ... & Yan, T. Pharmacological activity of eriodictyol: The major natural polyphenolic flavanone. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020.

De-Oliveira, A. C., Ribeiro-Pinto, L. F., & Paumgarten, F. J. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpenoid compounds. *Toxicology Letters*, 1997, 92(1), 39-46.

de Oliveira, I., Uchoa, M. A., Pereira, V. L., Nicácio, J., & Faccenda, O. *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae). *The Florida Entomologist*, 2019a, 102(1), 113-120.

de Oliveira, B. M., Melo, C. R., Santos, A. C., Nascimento, L. F., Nízio, D. A., Cristaldo, P. F., ... & Bacci, L. Essential oils from *Varronia curassavica* (Cordiaceae) accessions and their compounds (E)-caryophyllene and α -humulene as an alternative to control *Dorymyrmex thoracicus* (Formicidae: Dolichoderinae). *Environmental Science and Pollution Research*, 2019b, 26(7), 6602-6612.

de Vries, J., & Ischebeck, T. Ties between stress and lipid droplets pre-date seeds. *Trends in Plant Science*, 2020.

Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., ... & Kim, H. S. Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 505-567). Elsevier, 2020.

Dhandapani, S., Jin, J., Sridhar, V., Sarojam, R., Chua, N. H., & Jang, I. C. Integrated metabolome, and transcriptome analysis of *Magnolia champaca* identifies biosynthetic pathways for floral volatile organic compounds. *BMC Genomics*, 2017, 18(1), 1-18.

Díaz Chávez, M. L. Isolation, and characterization of (S)-chelianthifoline synthase, (S)-stylophine synthase and two FAD oxidases from a cDNA library from *Argemone mexicana*. Doctoral thesis. Universitäts- und Landesbibliothek Sachsen-Anha, 2009.

Dittrich, H., & Kutchan, T. M. Molecular cloning, expression, and induction of berberine bridge enzyme, an enzyme essential to the formation of benzophenanthridine alkaloids in the response of plants to pathogenic attack. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, 88(22), 9969-9973.

Dixit, G., Praveen, A., Tripathi, T., Yadav, V. K., & Verma, P. C. Herbivore-responsive cotton phenolics and their impact on insect performance and biochemistry. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2017, 20(2), 341-351.

Dong, S., Liu, M., Liu, Y., Chen, F., Yang, T., Chen, L., ... & Zhang, S. The genome of *Magnolia biondii* Pamp. provides insights into the evolution of Magnoliales and biosynthesis of terpenoids. *Horticulture Research*, 2021, 8(1), 1-13.

Doss, A. Preliminary phytochemical screening of some Indian medicinal plants. *Ancient Science of Life*, 2009, 29(2), 12.

Dos Santos, W. D., Ferrarese, M. L. L., & Ferrarese-Filho, O. Ferulic acid: an allelochemical troublemaker. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 2008, 2(1), 47-55.

Drabik, A., Bellia, F., Mielczarek, P., & Silberring, J. Hyphenated techniques. *Mass spectrometry: An Applied Approach*, 2019, 181-216.

Du, Y., Chu, H., Wang, M., Chu, I. K., & Lo, C. Identification of flavone phytoalexins and a pathogen-inducible flavone synthase II gene (SbFNSII) in sorghum. *Journal of Experimental Botany*, 2010, 61(4), 983-994.

Dugo, P., Cacciola, F., Donato, P., Jacques, R. A., Caramão, E. B., & Mondello, L. High efficiency liquid chromatography techniques coupled to mass spectrometry for the characterization of mate extracts. *Journal of Chromatography A.*, 2009,1216(43), 7213–7221.

Dutta, A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*, 2017, 73–93.

Ebere, E. C., Obinna, I. B., & Wirnkor, V. A. Applications of column, paper, thin layer, and ion exchange chromatography in purifying samples: Mini review. *SF Journal of Pharmaceutical and Analytical Chemistry*, 2019.

Einhellig, F. A., Galindo, J. C. G., Molinillo, J. M. G., & Cutler, H. G. Mode of allelochemical action of phenolic compounds. *Allelopathy: Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*, 2004, 217-238.

Eissa, T. F., González-Burgos, E., Carretero, M. E., & Gómez-Serranillos, M. P. Biological activity of HPLC-characterized ethanol extract from the aerial parts of *Haplophyllum tuberculatum*. *Pharmaceutical Biology*, 2013, 52(2), 151–156.

Elfahal, I. A., Elhoussein, S. A., Osman, N. A., & Ali, H. A. Recovery of alkaloids from leaves and seeds of *Argemone mexicana*. *Planta Medica*, 2011, 77(12), PA19.

El Feraly, F. S., & Li, W. S. Phenolic constituents of *Magnolia grandiflora* L. seeds. *Lloydia*, 1978.

Elliott, M. The pyrethroids: Early discovery, recent advances, and the future. *Pesticide Science*, 1989, 27(4), 337–351.

Enan, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2001, 130(3), 325–337.

Enciclovida. Cardo santo. *Argemone ochroleuca*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la biodiversidad. 2021. Consultado de <https://enciclovida.mx/especies/166231-argemone-ochroleuca>

Facchini, P. J., Penzes, C., Johnson, A. G., & Bull, D. Molecular characterization of berberine bridge enzyme genes from opium poppy. *Plant Physiology*, 1996, 112(4), 1669-1677.

Facchini, P. J., & De Luca, V. Phloem-specific expression of tyrosine/dopa decarboxylase genes and the biosynthesis of isoquinoline alkaloids in opium poppy. *The Plant Cell*, 1995, 7(11), 1811-1821.

Facchini, P. J. Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications. *Annual Review of Plant Biology*, 2001, 52(1), 29-66.

Faix, O. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Springer Series in Wood Science, 1992, 83–109.

FAO. Guidelines for the registration of biological pest control agents. Food and Agriculture Organization, 1988. Consulted of http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/Old_guidelines/BIOPEST.pdf

FAO. Técnica de los insectos estériles. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1998. Consultado de <http://www.fao.org/noticias/1998/sit-s.htm>

FAO. Manejo integrado de plagas. Bolivia. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2011. Consultado de <http://www.fao.org/3/as952s/as952s.pdf>

FAO. The future of food and agriculture. Trends and challenges. Food and Agriculture Organization, 2017a. <http://www.fao.org/3/i6583e/i6583e.pdf>

FAO. Guidelines for the registration of microbial, botanical and semiochemical pest control agents for plant protection and public health uses. International Code of Conduct on Pesticide Management. 2017b. <http://www.fao.org/3/i8091e/i8091e.pdf>

FAO. Quinoa manejo integrado de plagas. Estrategias en el cultivo de la quinoa para fortalecer el sistema agroalimentario en la zona andina. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016. <http://www.fao.org/3/i6038s/i6038s.pdf>

FAO. Plant health and food security. Food and Agriculture Organization, 2020a. Consulted in <http://www.fao.org/3/i7829en/I7829EN.pdf>

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2020b. Consulted in <http://www.fao.org>

FAO. Terms and definitions. Pesticide Registration Toolkit. Food and Agriculture Organization, 2021. Consultado en julio 2021. <http://www.fao.org/pesticide-registration-toolkit/information-sources/terms-and-definitions/terms-and-definitions-p/en/>

Feng, G., Zhang, J., Feng, J. T., & Zhang, X. Isolation, and identification of insecticidal composition of *Macleaya microcarpa*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2008, 28(1), 179.

Feng, G., Zhang, J., & Liu, Y. Q. Inhibitory activity of dihydrosanguinarine and dihydrochelerythrine against phytopathogenic fungi. *Natural Product Research*, 2011, 25(11), 1082-1089.

Feng, R., & Isman, M. B. Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Experientia*, 1995, 51(8), 831-833.

Feng, Y. X., Wang, Y., Chen, Z. Y., Guo, S. S., You, C. X., & Du, S. S. Efficacy of bornyl acetate and camphene from *Valeriana officinalis* essential oil against two storage insects. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(16), 16157-16165.

Fletcher, MT, Takken, G, Blaney, BJ, & Alberts, V. Isoquinoline alkaloids and keto-fatty acids of *Argemone ochroleuca* and *A. mexicana* (mexican poppy) seed. I. An assay method and factors affecting their concentration. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1993, 44(2), 265.

Flores-Estévez, N., Vasquez-Morales, S. G., Cano-Medina, T., Sánchez-Velásquez, L. R., Noa-Carrazana, J. C., & Díaz-Fleischer, F. Insecticidal activity of raw ethanolic extracts from *Magnolia dealbata* Zucc on a tephritid pest. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2013, 48(7), 582-586.

Fotie, J., Bohle, D. S., Olivier, M., Adelaida Gomez, M., & Nzimiro, S. Trypanocidal and antileishmanial dihydrochelerythrine derivatives from *Garcinia lucida*. *Journal of Natural Products*, 2007, 70(10), 1650–1653.

Gaire, S., Zheng, W., Scharf, M. E., & Gondhalekar, A. D. Plant essential oil constituents enhance deltamethrin toxicity in a resistant population of bed bugs (*Cimex lectularius* L.) by inhibiting cytochrome P450 enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2021, 175, 104829.

Galanie, S., & Smolke, C. D. Optimization of yeast-based production of medicinal protoberberine alkaloids. *Microbial Cell Factories*, 2015, 14(1), 1-13.

Gallardo, J. D. J. L., & Bravo, I. R. Ficha Técnica Mosca mexicana de la fruta. SENASICA, 2017.

Gammon, D. W., Leggett, M. F., & Clark, J. M. Pyrethroid mode (s) of action in the context of Food Quality Protection Act (FQPA) regulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(7), 2773-2785.

Garay, A. V. A., de la O Olan, M., & Chávez, B. C. ¿Es competitivo el subsector de frutas en México? *Revista Fuente*, 2011, 3(9).

García, F. R. M. Fruit fly: biological and ecological aspects. Current trends in fruit flies control on perennial crops and research prospects. Kerala: Transworld Research Network, 2009, 1-35.

Garza, B., Echeverria, A., Gonzalez, F., Castillo, O., Eubanks, T., & Bandyopadhyay, D. Phytochemical investigation of *Magnolia grandiflora* green seed cones: Analytical and phytoceutical studies. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(5), 1761-1767.

George, S. A., & Maute, A. A photodiode array detection system: Design concept and implementation. *Chromatographia*, 1982, 15(7), 419-425.

Gershenzon, J., & Croteau, R. Regulation of Monoterpene Biosynthesis in Higher Plants. *Biochemistry of the Mevalonic Acid Pathway to Terpenoids*, 1990, 99–160.

Gesell, A., Chávez, M. L. D., Kramell, R., Piotrowski, M., Macheroux, P., & Kutchan, T. M. Heterologous expression of two FAD-dependent oxidases with (S)-tetrahydroprotoberberine oxidase activity from *Argemone mexicana* and *Berberis wilsoniae* in insect cells. *Planta*, 2011, 233(6), 1185-1197.

Ghoneim, K. Impairing Effectiveness of Nerolidol, a Sesquiterpene Compound, on adult performance and reproductive potential of egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 2020, 13(2), 97-120.

Giannuzzi, L., Ortega, F., & Ventosi, E. G. Efectos tóxicos de los plaguicidas, insecticidas organofosforados y carbamatos. *Toxicología General y Aplicada*. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas, 2018.

Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. Pesticides, and health risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, 2010, 39(1), 103-110.

Gobato, R., Fedrigo, D. F. G., & Gobato, A. Allocryptopine, Berberine, chelerythrine, copsitine, dihydrosanguinarine, protopine and sanguinarine. Molecular geometry of the main alkaloids found in the seeds of *Argemone mexicana* Linn. *Parana Journal of Science and Education*, 2015, 1(2), 7-16.

Goławska, S., & Łukasik, I. Antifeedant activity of luteolin and genistein against the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Pest Science*, 2012, 85(4), 443-450.

González-Cobos, L., Jimarez-Jimarez, N., Acosta-Velasco, E., & Birke-Biewendt, A. Efecto del insecticida-cebo GF120TM sobre el comportamiento de forrajeo y oviposición de *Anastrepha ludens* y *Anastrepha obliqua* 1. *Southwestern Entomologist*, 2016, 41(3), 813-826.

Gottlieb, O. R., & Yoshida, M. Lignans. In *Natural products of woody plants*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1989, 439-511.

Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I., Seymour, R. S., & Dötterl, S. Pollination ecology of *Magnolia ovata* may explain the overall large flower size of the genus. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2012, 207(2), 107-118.

Gouvea, D. R., Gobbo-Neto, L., Sakamoto, H. T., Lopes, N. P., Lopes, J. L. C., Meloni, F., & Amaral, J. G. Seasonal variation of the major secondary metabolites present in the extract of *Eremanthus mattogrossensis* Less (Asteraceae: Vernoniaceae) leaves. *Química Nova*, 2012, 35(11), 2139-2145.

Govindarajan, M., Rajeswary, M., & Benelli, G. δ -Cadinene, calarene and δ -4-carene from *Kadsura heteroclita* essential oil as novel larvicides against malaria, dengue and filariasis mosquitoes. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2016, 19(7), 565-571.

Graham, I. A. Seed storage oil mobilization. *Annual Review Plant Biology*, 2008, 59, 115-142.

Granados-Echegoyen, C., Pérez-Pacheco, R., Bautista-Martínez, N., Alonso-Hernández, N., Sánchez-García, J. A., Martínez-Tomas, S. H., & Sánchez-Mendoza, S.

Insecticidal effect of botanical extracts on developmental stages of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Southwestern Entomologist*, 2015, 40(1), 97-110.

Grdiša, M., & Gršić, K. Botanical insecticides in plant protection. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 2013, 78(2), 85-93.

Gutiérrez Carvajal, L. Estudio biológico de una especie forestal endémica (*Magnolia dealbata* Zucc.) Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, 1993.

Habib, A. A. M. False-positive alkaloid reactions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1980, 69(1), 37-43.

Håkansson, P. An introduction to the time-of-flight technique. *Brazilian Journal of Physics*, 1999, 29(3), 422-427.

Hakim, S. A., Mijović, V., & Walker, J. Distribution of certain poppy-fumaria alkaloids and a possible link with the incidence of glaucoma. *Nature*, 1961, 189(4760), 198-201.

Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, A., Sluiter, J., & Templeton, D. Preparation of samples for compositional analysis. *Laboratory Analytical Procedure (LAP)*, 2008, 1617, 65-71.

Han, Y., Sun, Z., & Chen, W. Antimicrobial susceptibility and antibacterial mechanism of limonene against *Listeria monocytogenes*. *Molecules*, 2020, 25(1), 33.

Harborne, J. B. Phenolic compounds. In *Phytochemical methods*. Springer, Dordrecht, 1973, 33-88.

Harborne, J. B., & Williams, C. A. Flavonoids in the seeds of *Argemone mexicana*: a reappraisal. *Phytochemistry*, 22(6), 1520-1521, 1983.

Hatzakis, E. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in Food Science: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2018.

Hellmich, J. Impacto del uso de pesticidas sobre las aves: el caso de las avutardas. *Ardeola*, 1992, 39 (2): 7-22.

He, N., Wang, P., Wang, P., Ma, C., & Kang, W. Antibacterial mechanism of chelerythrine isolated from root of *Toddalia asiatica* (Linn) Lam. BMC complementary and alternative medicine, 2018, 18(1), 1-9.

Hernández-Ortiz, V. Diversidad y biogeografía del género *Anastrepha* en México. Moscas de la fruta en Latinoamérica (Diptera: Tephritidae): Diversidad, biología y manejo. S y G editores, Distrito Federal, México, 2007, 53-76.

Hernández-Ortiz, V., Guillén-Aguilar, J., & López, L. Taxonomía e identificación de moscas de la fruta de importancia económica en América. Moscas de la fruta: fundamentos y procedimientos para su manejo. México, S y G Editores, 2010, 49-80.

Hesse, M. Alkaloids: nature's curse or blessing? John Wiley & Sons, 2002.

Hoda, M., Hemaiswarya, S., & Doble, M. Phenolic Phytochemicals: Sources, Biosynthesis, Extraction, and Their Isolation. In Role of Phenolic Phytochemicals in Diabetes Management. Springer, Singapore, 2019, 13-44.

Holm, T. Aspects of the mechanism of the flame ionization detector. Journal of Chromatography A., 1999, 842(1-2), 221-227.

Hore, P. J. Nuclear magnetic resonance. Oxford University Press, USA., 2015.

Hornak, P. J. Sample preparation. Universidad of Washington. Undated. Consulted in <https://depts.washington.edu/eoopic/linkfiles/NMR%20sample%20preparation.pdf>

Huang, A. H. Oleosins and oil bodies in seeds and other organs. Plant physiology, 1996, 110(4), 1055.

Huang, P., Sun, M., & Zeng, J. Low-molecular compounds of latex-bearing plants and their biosynthesis. Advances in Botanical Research, 2019.

Huang, P., Xia, L., Zhou, L., Liu, W., Wang, P., Qing, Z., & Zeng, J. Influence of different elicitors on BIA production in *Macleaya cordata*. Scientific Reports, 2021, 11(1), 1-7.

Huang, Y., Ou, Q., & Yu, W. Characteristics of flame ionization detection for the quantitative analysis of complex organic mixtures. Analytical Chemistry, 1990, 62(18), 2063-2064.

Hubert, J., Nuzillard, J. M., & Renault, J. H. Dereplication strategies in natural product research: How many tools and methodologies behind the same concept? *Phytochemistry Reviews*, 2017, 16(1), 55-95.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 2012, 3, 12.

Iijima, Y., Gang, D. R., Fridman, E., Lewinsohn, E., & Pichersky, E. Characterization of geraniol synthase from the peltate glands of sweet basil. *Plant Physiology*, 2004, 134(1), 370-379.

INAES. Instituto Nacional de la Economía Social. Las mejores frutas se cultivan en México. 2017. Consultado en junio 2021. <https://www.gob.mx/inaes/es/articulos/las-mejores-frutas-se-cultivan-en-mexico?idiom=es>

Indumathi, C., Durgadevi, G., Nithyavani, S., & Gayathri, P. K. Estimation of terpenoid content and its antimicrobial property in *Enicostemma litorale*. *International Journal ChemTech Reserch*, 2014, 6(9), 4264-4267.

Inostroza, J., & Mendez, P. Enfermedades y plagas cuarentenarias. *Boletín INIA-Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, 2009.

Inoue, Y., Shiraishi, A., Hada, T., Hirose, K., Hamashima, H., & Shimada, J. The antibacterial effects of terpene alcohols on *Staphylococcus aureus* and their mode of action. *FEMS microbiology letters*, 2004, 237(2), 325-331.

Isman, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review Entomology*, 2006, 51, 45-66.

Isman, M. B. Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise? *Annual Review of Entomology*, 2020, 65, 233-249.

Issa, D., Najjar, A., Greige-Gerges, H., & Nehme, H. Screening of some essential oil constituents as potential inhibitors of the ATP synthase of *Escherichia coli*. *Journal of food science*, 2019, 84(1), 138-146.

Ixtacua-Martínez, M. A., Elizondo-Salas, A. C., & Jimeno-Sevilla, H. D. Uso, manejo y estructura poblacional de Eloxochitl (*Magnolia vovidesii*) en la Sierra de

Zongolica, Ver., 2018. Consultado de file:///C:/Users/Hp/Downloads/Ixtacua-MartinezA.etal.Magnoliavovidesiiusoconocimiento.pdf

Diaz, F., R McDonald, P., Roy, A., Taylor, B., Price, A., Hall, J., ... & Chaguturu, R. Compound ranking based on a new mathematical measure of effectiveness using time course data from cell-based assays. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2013, 16(3), 168-179.

Janas, K. M., Cvikrová, M., Pałagiewicz, A., & Eder, J. Alterations in phenylpropanoid content in soybean roots during low temperature acclimation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2000, 38(7-8), 587-593.

Jankowska, M., Rogalska, J., Wyszowska, J., & Stankiewicz, M. Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system—a review. *Molecules*, 2018, 23(1), 34.

Janovská, M., Kubala, M., Šimánek, V., & Ulrichová, J. Interaction of sanguinarine and its dihydroderivative with the Na⁺/K⁺-ATPase. Complex view on the old problem. *Toxicology Letters*, 2010, 196(1), 56-59.

Jaradat, N., Hussen, F., & Al Ali, A. Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavonoids, total phenols, and antioxidant activity of *Ephedra alata* Decne. *Journal Mater Environmental Science*, 2015, 6(6), 1771-8.

Jati, B. N., Nuraeni, C., Yunilawati, R., & Oktarina, E. Phytochemical screening and total lipid content of marine macroalgae from *Binuangeun beach*. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1317, No. 1, p. 012103). IOP Publishing, 2019, October.

Jayaraj, R., Megha, P., & Sreedev, P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 2016, 9(3-4), 90.

Jemberie, W., Masresha, G., & Raja, N. Evaluation of larvicidal properties of *Argemone mexicana* Linn. seed and leaf extracts against *Culex* mosquito (Diptera: Culicidae) species, 2017.

Jensen, I. M., & Whatling, P. Malathion. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 2010, 1527–1542.

Jesús-Barros, C. R., Adaime, R., Oliveira, M. N., Silva, W. R., Costa-Neto, S. V., & Souza-Filho, M. F. *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) species, their hosts, and parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) in five municipalities of the state of Amapá, Brazil. *Florida Entomologist*, 2012, 694-705.

Jiang, Z., Kempinski, C., & Chappell, J. Extraction, and analysis of terpenes/terpenoids. *Current Protocols in Plant Biology*, 2016, 1(2), 345-358.

Jiménez, E. *Métodos de control de plagas*. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua, 2009.

Jing, M., Shiqiong, L., Zhannan, Y., Shengjuan, D., Juan, H., Zhu, Z. Comparative analysis of phenolics and volatiles in the seeds of *Magnolia officinalis* and *Magnolia officinalis* var. *biloba*. Key Laboratory for Information System of Mountainous Area and Protection of Ecological Environment of Guizhou Province, Guizhou Normal University; School of Life Science, Guizhou Normal University; 2015, [J]; 种子

Jorgensen, R. The origin of land plants: a union of alga and fungus advanced by flavonoids? *Biosystems*, 1993, 31(2-3), 193-207.

Kang, J. H., McRoberts, J., Shi, F., Moreno, J. E., Jones, A. D., & Howe, G. A. The flavonoid biosynthetic enzyme chalcone isomerase modulates terpenoid production in glandular trichomes of tomato. *Plant physiology*, 2014, 164(3), 1161-1174.

Karr, L. L., Drewes, C. D., & Coats, J. R. Toxic effects of d-limonene in the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1990, 36(2), 175-186.

Karunanithi, P. S., & Zerbe, P. Terpene synthases as metabolic gatekeepers in the evolution of plant terpenoid chemical diversity. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10, 1166.

Kermath, B. M., Bennett, B. C., & Pulsipher, L. M. *Food Plants in the Americas*, 1992.

Khlestkina, E. The adaptive role of flavonoids: emphasis on cereals. *Cereal Research Communications*, 2013, 41(2), 185-198.

Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 2013, 18(2), 2328–2375.

Khosrow, K. Y., Ali, F. E., & Sadeq, W. S. Study of genotoxic and cytotoxic effects of malathion in Japanese Quail. *Tikrit Journal of Pure Science*, 2019, 23(10), 19-26.

Kim, S. I., Yoon, J. S., Jung, J. W., Hong, K. B., Ahn, Y. J., & Kwon, H. W. Toxicity, and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2010, 13(4), 369-373.

Kind, T., & Fiehn, O. Advances in structure elucidation of small molecules using mass spectrometry. *Bioanalytical reviews*, 2010, 2(1), 23-60.

Kodama, O., Miyakawa, J., Akatsuka, T., & Kiyosawa, S. Sakuranetin, a flavanone phytoalexin from ultraviolet-irradiated rice leaves. *Phytochemistry*, 1992, 31(11), 3807-3809.

Koeduka, T., Sugimoto, K., Watanabe, B., Someya, N., Kawanishi, D., Gotoh, T., ... Hiratake, J. Bioactivity of natural O-prenylated phenylpropenes from *Illicium anisatum* leaves and their derivatives against spider mites and fungal pathogens. *Plant Biology*, 2013, 16(2), 451–456.

Kong, C. H., Zhao, H., Xu, X. H., Wang, P., & Gu, Y. Activity, and allelopathy of soil of flavone O-glycosides from rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(15), 6007-6012.

Koo, B. S., Park, K. S., Ha, J. H., Park, J. H., Lim, J. C., & Lee, D. U. Inhibitory effects of the fragrance inhalation of essential oil from *Acorus gramineus* on central nervous system. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2003, 26(7), 978-982.

Kubanek, J., Hay, M. E., Brown, P. J., Lindquist, N., & Fenical, W. Lignoid chemical defenses in the freshwater macrophyte *Saururus cernuus*. *Chemoecology*, 2001, 11(1), 1-8.

Kumar, P., Singh, V. K., & Singh, D. K. Kinetics of enzyme inhibition by active molluscicidal agents ferulic acid, umbelliferone, eugenol and limonene in the nervous tissue of snail *Lymnaea acuminata*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 2009, 23(2), 172-177.

Kwan, E. E., & Huang, S. G. Structural elucidation with NMR spectroscopy: practical strategies for organic chemists. *European Journal of Organic Chemistry*, 2008, (16), 2671-2688.

Lackus, N. D., Lackner, S., Gershenzon, J., Unsicker, S. B., & Köllner, T. G. The occurrence and formation of monoterpenes in herbivore-damaged poplar roots. *Scientific reports*, 2018, 8(1), 1-13.

Langenheim, J. H. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 1994, 20(6), 1223-1280.

Lang, L., Hu, Q., Wang, J., Liu, Z., Huang, J., Lu, W., & Huang, Y. Coptisine, a natural alkaloid from *Coptidis rhizoma*, inhibits *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase. *Chemical biology & drug design*, 2018, 92(1), 1324-1332.

Lattanzio, V., Kroon, P. A., Quideau, S., & Treutter, D. Plant phenolics—secondary metabolites with diverse functions. *Recent Advances in Polyphenol Research*, 2008, 1, 1-35.

Lattanzio, V. Phenolic Compounds: Introduction 50. K.G. Ramawat, J.M. and Merillon, Natural Products, 2013.

Leal Soto, S. D., Valenzuela Quintanar, A. I., Gutiérrez Coronado, M. D. L., Bermúdez Almada, M. D. C., García Hernández, J., Aldana Madrid, M. L., ... & Valenzuela Navarro, C. P. Residuos de plaguicidas organoclorados en suelos agrícolas. *Terra Latinoamericana*, 2014, 32(1), 1-11.

Lee, S., & Chappell, J. Biochemical and genomic characterization of terpene synthases in *Magnolia grandiflora*. *Plant Physiology*, 2008, 147(3), 1017-1033.

Leonard, E., Yan, Y., Lim, K. H., & Koffas, M. A. Investigation of two distinct flavone synthases for plant-specific flavone biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12), 8241-8248.

Levin, D. A. The oil content of seeds: an ecological perspective. *The American Naturalist*, 1974, 108(960), 193-206.

Lewis, N. G., & Davin, L. B. Evolution of lignan and neolignan biochemical pathways. *Isopentenoids and Other Natural Products*. American Chemical Society, 1994, 202-246.

Lewis, N. G., Kato, M. J., Lopes, N., & Davin, L. B. Lignans: Diversity, biosynthesis, and function. American Chemical Society, 1995, 135-167.

Leyva, J. L., Browning, H. W., & Gilstrap, F. E. Development of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) in several host fruit. Environmental Entomology, 1991, 20(4), 1160–1165.

Leyva, M., French, L., Pino, O., Montada, D., Morejón, G., & del Carmen Marquetti, M. Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos. Estado actual de la temática en la región de las Américas. Revista Biomédica, 2017, 28(3), 137-178.

Li, C., Huang, P., Wong, K., Xu, Y., Tan, L., Chen, H., ... & Xie, J. Coptisine-induced inhibition of *Helicobacter pylori*: elucidation of specific mechanisms by probing urease active site and its maturation process. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2018a, 33(1), 1362-1375.

Li, G., & Lou, H. X. Strategies to diversify natural products for drug discovery. Medicinal Research Reviews, 2018b, 38(4), 1255-1294.

Li, H. M., Zhao, S. R., Huo, Q., Ma, T., Liu, H., kyoung Lee, J., ... & Wu, C. Z. A new dimeric neolignan from *Magnolia grandiflora* L. seeds. Archives of Pharmacal Research, 2015, 38(6), 1066-1071.

Li, H., Xie, H., Du, Z., Xing, X., Zhao, J., Guo, J., ... & Zhang, S. The effects of phenolic acid on nitrogen metabolism in *Populus × euramericana* ‘Neva’. Journal of Forestry Research, 2018c, 29(4), 925-931.

Li, J., He, Y., Ma, D., He, B., Wang, Y., & Chen, B. Volatile allelochemicals of *Chenopodium ambrosioides* L. induced mitochondrion-mediated Ca²⁺-dependent and caspase-dependent apoptosis signaling pathways in receptor plant cells. Plant and Soil, 2018d, 425(1), 297-308.

Li, P., Hu, J. W., Wen, C. W., Hang, Y., Zhou, Z. H., Xie, M., ... & Deng, M. J. Sanguinarine caused larval lethality and growth inhibition by suppressing energy metabolism in silkworms, *Bombyx mori*. Pesticide biochemistry and physiology, 2019, 160, 154-162.

Lim, T.K. *Magnolia grandiflora*. In: *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. Springer, Dordrecht, 2014.

Lin, Q., Ma, C., Guan, H., Chen, L., Xie, Q., Cheng, X., & Wang, C. Metabolites identification and reversible interconversion of chelerythrine and dihydrochelerythrine in vitro/in vivo in rats using ultra-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2020, 189, 113462.

Linder, C. R. Adaptive evolution of seed oils in plants: accounting for the biogeographic distribution of saturated and unsaturated fatty acids in seed oils. *The American Naturalist*, 2000, 156(4), 442-458.

Liscombe, D. K., & Facchini, P. J. Molecular cloning and characterization of tetrahydroprotoberberine cis-N-methyltransferase, an enzyme involved in alkaloid biosynthesis in opium poppy. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(20), 14741-14751.

Liu, T., Wang, C. J., Xie, H. Q., & Mu, Q. Guaiol-a naturally occurring insecticidal sesquiterpene. *Natural Product Communications*, 2013, 8(10), 1934578X1300801001.

Liu, Y., Shao, J., Liu, D., Li, J., & Chen, J. Effect of chelerythrine on the growth and photosynthetic system of *Microcystis aeruginosa*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(1), 149-154.

Liu, Y., Xue, M., Zhang, Q., Zhou, F., & Wei, J. Toxicity of β -caryophyllene from *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) to *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) and its action mechanism. *Acta Entomologica Sinica*, 2010, 53(4), 396-404.

Liu, Z. L., & Du, S. S. Fumigant components from the essential oil of *Evodia rutaecarpa* Hort unripe fruits. *E-Journal of Chemistry*, 2011, 8(4), 1937-1943.

Łobiński, R., & Marczenko, Z. Recent advances in ultraviolet-visible spectrophotometry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1992, 23(1-2), 55-111.

Loera, G. Ficha técnica. Mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew). SENASICA. Dirección General de Sanidad Vegetal. 2017. Consultado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/249395/Anastrepha_ludens_Loew.pdf

Loomis, W. D., & Croteau, R. Biochemistry of terpenoids. In *Lipids: Structure and Function* (pp. 363-418). Academic Press, 1980.

Loza-Tavera, H. Monoterpenes in essential oils. *Chemicals Via Higher Plant Bioengineering*, 1999, 49-62.

Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. Terpenoids. In *Pharmacognosy*. Academic Press, 2017, 233-266.

Lukas, B., Samuel, R., & Novak, J. Oregano, or marjoram? The enzyme γ -terpinene synthase affects chemotype formation in the genus *Origanum*. *Israel Journal of Plant Sciences*, 2010, 58(3), 211–220.

Luo, M., Sun, J., Zhang, B., & Jiang, L. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Magnolia grandiflora* L. seed. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 2012a, 17(3), 249-254.

Luo, X. B., Chen, B., & Yao, S. Z. Rapid determination of protopine, allocryptopine, sanguinarine and chelerythrine in fruits of *Macleaya cordata* by microwave-assisted solvent extraction and HPLC-ESI/MS. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 2006, 17(6), 431-438.

Luo, X., Pedro, L., Milic, V., Mulhovo, S., Duarte, A., Duarte, N., & Ferreira, M. J. U. Antibacterial benzofuran neolignans and benzophenanthridine alkaloids from the roots of *Zanthoxylum capense*. *Planta medica*, 2012b, 78(02), 148-153.

Luthria, D. L., Mukhopadhyay, S., & Krizek, D. T. Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of food composition and analysis*, 2006, 19(8), 771-777.

Macilla, C. *Argemone ochroleuca* Sweet, 1828. Flickrriver. 2018. Consultado de https://www.flickrriver.com/photos/carlos_mancilla/48064485256/

Mahmood, T., Anwar, F., Abbas, M., & Saari, N. Effect of maturity on phenolics (phenolic acids and flavonoids) profile of strawberry cultivars and mulberry species from Pakistan. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13(4), 4591-4607.

Maldoni, B. Alkaloids: isolation and purification. *Journal of Chemical Education*, 1991, 68(8), 700.

Mandal, S. C., Mandal, V., & Das, A. K. Chapter 5. Extraction of Botanicals in Essentials of botanical extraction: Principles and Applications. Academic Press, 2015a.

Mandal, S. C., Mandal, V., & Das, A. K. Chapter 8. Identification strategies of phytochemicals in essentials of botanical extraction: Principles and applications. Academic Press, 2015b.

Mandal, S. C., Mandal, V., & Das, A. K. Chapter 9. Qualitative phytochemical screening in essentials of botanical extraction: Principles and Applications. Academic Press, 2015c.

Mandal, S. C., Mandal, V., & Das, A. K. Chapter 10. Profiling crude extracts for rapid identification of bioactive compounds in essentials of botanical extraction: Principles and Applications. Academic Press, 2015d.

Manda, V. K., Ibrahim, M. A., Dale, O. R., Kumarihamy, M., Cutler, S. J., Khan, I. A., ... & Khan, S. I. Modulation of CYPs, P-gp, and PXR by *Eschscholzia californica* (California poppy) and its alkaloids. *Planta médica*, 2016, 82(06), 551-558.

Manosalva, L., Mutis, A., Palma, R., Fajardo, V., & Quiroz, A. Actividad antialimentaria de los extractos de alcaloides de calafate (*Berberis microphylla*, G. Forst, 1789) sobre larvas de la polilla de la col (*Plutella xylostella*, Linnaeus, 1758). In *Anales del Instituto de la Patagonia* (Vol. 47, No. 1, pp. 17-23). Universidad de Magallanes, 2019.

Marco-Urrea, E., Pérez-Trujillo, M., Cruz-Morató, C., Caminal, G., & Vicent, T. White-rot fungus-mediated degradation of the analgesic ketoprofen and identification of intermediates by HPLC–DAD–MS and NMR. *Chemosphere*, 2010, 78(4), 474-481.

Marei, G. I., & Abdelgaleil, S. Antifungal potential and biochemical effects of monoterpenes and phenylpropenes on plant pathogenic fungi. *Plant Protection Science*, 2018, 54(1).

Marin, P., Sajdl, V., Kapor, S., & Tatić, B. Fatty acid composition of seeds of the Papaveraceae and Fumariaceae. *Phytochemistry*, 1989, 28(1), 133-137.

Martens, S., & Mithöfer, A. Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry*, 2005, 66(20), 2399–2407.

Martin, D. M., & Bohlmann, J. Identification of *Vitis vinifera* (-)- α -terpineol synthase by in silico screening of full-length cDNA ESTs and functional characterization of recombinant terpene synthase. *Phytochemistry*, 2004, 65(9), 1223-1229.

Matsushashi, R., Satou, T., Koike, K., Yokosuka, A., Mimaki, Y., Sashida, Y., & Nikaido, T. Nematocidal activity of isoquinoline alkaloids against a species of diplogastridae. *Planta Medica*, 2002, 68(2), 169–171.

Matsuki, M. Regulation of plant phenolic synthesis: from biochemistry to ecology and evolution. *Australian Journal of Botany*, 1996, 44(6), 613-634.

McClure, J. W. The physiology of phenolic compounds in plants. In *Biochemistry of Plant Phenolics* (pp. 525-556). Springer, Boston, MA., 1979.

McLafferty, F. W. Tandem mass spectrometry. *Science*, 1981, 214(4518), 280-287.

Mesquita, R. D. S., de Oliveira, A. C., Sá, I. S., Sales, M. L., Bastos, L. M., Koolen, H. H., ... & Nunomura, R. C. Essential oils from leaves of *Virola calophylla*, *Virola multinervia*, and *Virola pavonis* (Myristicaceae): Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 2020, 23(3), 453-463.

Merillon, J. M., & Ramawat, K. G. *Co-Evolution of secondary metabolites*. Springer International Publishing, 2019.

Miller, J. S., & Feeny, P. Effects of benzylisoquinoline alkaloids on the larvae of polyphagous Lepidoptera. *Oecologia*, 1983, 58(3), 332-339.

Miller, R., Owens, S. J., & Rørslett, B. *Plants and colour: flowers and pollination*. *Optics & Laser Technology*, 2011, 43(2), 282-294.

Mishra, B. B., Gautam, S., & Sharma, A. Free phenolics and polyphenol oxidase (PPO): The factors affecting post-cut browning in eggplant (*Solanum melongena*). *Food chemistry*, 2013, 139(1-4), 105-114.

Mitema, A., Feto, N. A., & Rafudeen, M. S. Development and validation of TOF/Q-TOF MS/MS, HPLC method and in vitro bio-strategy for aflatoxin mitigation. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2020, 37(12), 2149-2164.

Mitra, S. Sample preparation techniques in analytical chemistry (Vol. 237). John Wiley & Sons, 2004.

Miyazawa, M., Fujioka, J., & Ishikawa, Y. Insecticidal compounds from *Phellodendron amurense* active against *Drosophila melanogaster*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, 82(8), 830-833.

Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2010, (2), 77-82.

Molina-Nery, M. C., Ruiz-Montoya, L., Zepeda-Cisneros, C. S., & Liedo, P. Genetic structure of populations of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) in Mexico. Florida Entomologist, 2014, 1648-1661.

Monzote, L., Stamberg, W., Staniek, K., & Gille, L. Toxic effects of carvacrol, caryophyllene oxide, and ascaridole from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* on mitochondria. Toxicology and Applied Pharmacology, 2009, 240(3), 337–347.

Moo, C. L., Yang, S. K., Osman, M. A., Yuswan, M. H., Loh, J. Y., Lim, W. M., ... & Lai, K. S. Antibacterial activity, and mode of action of β -caryophyllene on *Bacillus cereus*. Polish Journal of Microbiology, 2020, 69(1), 49.

Moreno, C. J. NOM-025-FITO-2000. Para el establecimiento de zonas bajo protección y zonas libres de plagas cuarentenarias de la papa. SAGARPA. Diario Oficial de la Federación, 2000. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/562774/NOM-025-FITO-2000_12062000.pdf

Morris, J. S., & Facchini, P. J. Isolation and characterization of reticuline N-methyltransferase involved in biosynthesis of the aporphine alkaloid magnoflorine in opium poppy. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(45), 23416-23427.

Moss, G. P. Nomenclature of lignans and neolignans (IUPAC Recommendations 2000). Pure and Applied Chemistry, 2000, 72(8), 1493-1523.

Mumm, R., Posthumus, M. A., & Dicke, M. Significance of terpenoids in induced indirect plant defense against herbivorous arthropods. Plant, cell & environment, 2008, 31(4), 575-585.

Murillo, F. D., Montoya, P., Cabrera-Mireles, H., Barrera, J. F., & Liedo, P. Intrinsic competition between *Diachasmimorpha longicaudata* and three native species of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) fruit flies under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 2019, 29(8), 757-772.

Mustapha, M. U., Halimoon, N., Johar, W. L. W., & Abd Shukor, M. Y. An overview on biodegradation of carbamate pesticides by soil bacteria. *Pertanika Journal of Science & Technology*, 2019, 27(2).

Nagajyothi, S., Swetha, Y., Neeharika, J., Suresh, P. V., & Ramarao, N. Hyphenated techniques-a comprehensive review. *International Journal for Advance Research and Development*, 2017, 2(4).

Nagy, N. E., Fossdal, C. G., Krokene, P., Krekling, T., Lönneborg, A., & Solheim, H. Induced responses to pathogen infection in Norway spruce phloem: changes in polyphenolic parenchyma cells, chalcone synthase transcript levels and peroxidase activity. *Tree Physiology*, 2004, 24(5), 505-515.

Nakatsuka, T., Nishihara, M., Mishiba, K., & Yamamura, S. Temporal expression of flavonoid biosynthesis-related genes regulates flower pigmentation in gentian plants. *Plant Science*, 2005, 168(5), 1309–1318.

Navarro, V., & Delgado, G. Two antimicrobial alkaloids from *Bocconia arborea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 66(2), 223–226.

Nelson, G. *America's Magnolias. The American Gardener.* American Horticultural Society, Alexandria, VA, USA., 2008, 38-43.

Nguyen, L. T., Myslivečková, Z., Szotáková, B., Špičáková, A., Lněničková, K., Ambrož, M., ... & Skálová, L. The inhibitory effects of β -caryophyllene, β -caryophyllene oxide and α -humulene on the activities of the main drug-metabolizing enzymes in rat and human liver in vitro. *Chemico-Biological Interactions*, 2017, 278, 123-128.

Nikolić, D. CASMI 2016: A manual approach for dereplication of natural products using tandem mass spectrometry. *Phytochemistry Letters*, 2017, 21, 292–296.

Nordlander, G. Limonene inhibits attraction to α -pinene in the pine weevils *Hylobius abietis* and *H. pinastri*. *Journal of Chemical Ecology*, 1990, 16(4), 1307-1320.

Norrbom, A. L., Castillo-Meza, A. L., García-Chávez, J. H., Aluja, M., & Rull, J. A new species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) from *Euphorbia tehuacana* (Euphorbiaceae) in Mexico. *Zootaxa*, 2014, 3780(3), 567-576.

O'Brien, T. E., Bertolani, S. J., Tantillo, D. J., & Siegel, J. B. Mechanistically informed predictions of binding modes for carbocation intermediates of a sesquiterpene synthase reaction. *Chemical science*, 2016, 7(7), 4009-4015.

Oerke, E. C. Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 2006, 144(1), 31-43.

O'Keefe, B. R., & Beecher, C. W. Isolation, and characterization of S-adenosyl-L-methionine: tetrahydroberberine-cis-N-methyltransferase from suspension cultures of *Sanguinaria canadensis* L. *Plant physiology*, 1994, 105(1), 395-403.

Oldfield, E., & Lin, F. Y. Terpene biosynthesis: modularity rules. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(5), 1124-1137.

OPS. Preguntas y respuestas sobre el uso diazinón, malatión y glifosato. Organización Mundial de la Salud. 2015. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-cha-preg-resp-diazinon-malation-glisofato.pdf>

Ordano, M., Guillen, L., Rull, J., Lasa, R., & Aluja, M. Temporal dynamics of diversity in a tropical fruit fly (Tephritidae) ensemble and their implications on pest management and biodiversity conservation. *Biodiversity and Conservation*, 2013, 22(6), 1557-1575.

Ortuño, A., Báidez, A., Gómez, P., Arcas, M. C., Porras, I., García-Lidón, A., & Del Río, J. A. *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids: Their influence in the defense mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry*, 2006, 98(2), 351-358.

Ortuño, A., Garcia-Puig, D., Fuster, M. D., Perez, M. L., Sabater, F., Porras, I., ... & Del Rio, J. A. Flavanone and nootkatone levels in different varieties of grapefruit and pummelo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(1), 1-5.

Ownbey, G. B. Monograph of the genus *Argemone* for North America and the West Indies. *Memoirs of the Torrey Botanical Club*, 1958, 21(1), 1-159.

Oyedemi, S. O., Okoh, A. I., Mabinya, L. V., Pirochenva, G., & Afolayan, A. J. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and g-terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. African Journal of Biotechnology, 2009, 8(7).

Pajaro-Castro, N., Caballero-Gallardo, K., & Olivero-Verbel, J. Neurotoxic effects of linalool and β -pinene on *Tribolium castaneum* Herbst. Molecules, 2017, 22(12), 2052.

Palafox-Carlos, H., Yahia, E. M., & González-Aguilar, G. A. Identification, and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. Food chemistry, 2012, 135(1), 105-111.

Pang, X., Feng, Y. X., Qi, X. J., Xi, C., & Du, S. S. Acute toxicity and repellent activity of essential oil from *Atalantia guillauminii* Swingle fruits and its main monoterpenes against two stored product insects. International Journal of Food Properties, 2021, 24(1), 304-315.

Pang, X., Almaz, B., Qi, X. J., Wang, Y., Feng, Y. X., Geng, Z. F., ... & Du, S. S. Bioactivity of essential oil from *Atalantia buxifolia* leaves and its major sesquiterpenes against three stored-product insects. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 2020, 23(1), 38-50.

Paranhos, B. J., Sivinski, J., Stuhl, C., Holler, T., & Aluja, M. Intrinsic competition and competitor-free-space influence the coexistence of parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae) of Neotropical Tephritidae (Diptera). Environmental Entomology, 2013, 42(4), 717–723.

Passos, M. L., & Saraiva, M. L. M. Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. Measurement, 2019, 135, 896-904.

Paulsen, J., Yahyazadeh, M., Hänsel, S., Kleinwächter, M., Ibrom, K., & Selmar, D. 13, 14-dihydrocoptisine—the genuine alkaloid from *Chelidonium majus*. Phytochemistry, 2015, 111, 149-153.

Pavia, D. L., Kriz, G. S., Lampman, G. M., & Engel, R. G. A microscale approach to organic laboratory techniques. Cengage Learning, 2012. https://laney.edu/corlett/wp-content/uploads/sites/234/2012/01/IR_instr1.pdf

Pawliszyn, J. Sampling and sample preparation in field and laboratory: fundamentals and new directions in sample preparation (Vol. 37). Elsevier, 2002.

Pehkonen, S. O., & Zhang, Q. The Degradation of organophosphorus pesticides in natural waters: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2002, 32(1), 17–72. doi:10.1080/10643380290813444

Pellegrini, M. C., Alonso-Salces, R. M., Umpierrez, M. L., Rossini, C., & Fuselli, S. R. Chemical composition, antimicrobial activity, and mode of action of essential oils against *Paenibacillus* larvae, etiological agent of American foulbrood on *Apis mellifera*. *Chemistry & biodiversity*, 2017, 14(4), e1600382.

Perchalski, R. J., Yost, R. A., & Wilder, B. J. Structural elucidation of drug metabolites by triple-quadrupole mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 1982, 54(9), 1466–1471. doi:10.1021/ac00246a006

Pereira, C. V., Machado, N. G., & Oliveira, P. J. Mechanisms of berberine (natural yellow 18)–induced mitochondrial dysfunction: Interaction with the adenine nucleotide translocator. *Toxicological Sciences*, 2008, 105(2), 408-417.

Perrino, P., Maruca, G., Linsalata, V., Bianco, V. V., Lester, R. N., & Lattanzio, V. (). Flavonoid taxonomic analysis of *Vicia* species of section Faba. *Canadian Journal of Botany*, 1989, 67(12), 3529-3533.

Phillipson, J. D., Roberts, M. F., & Zenk, M. H. The chemistry and biology of isoquinoline alkaloids. Springer Science & Business Media, 2012.

Philogene, B. J. R., Arnason, J. T., Towers, G. H. N., Abramowski, Z., Campos, F., Champagne, D., & McLachlan, D. Berberine: a naturally occurring phototoxic alkaloid. *Journal of Chemical Ecology*, 1984, 10(1), 115-123.

Popenoe, W. Central American fruit culture. *Ceiba*, 1952, 1(5), 269-281.

Potterat, O., Von Felten, R., Dalsgaard, P. W., & Hamburger, M. Identification of TLC markers and quantification by HPLC-MS of various constituents in noni fruit powder and commercial noni-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(18), 7489-7494.

Prinsloo, G., & Nogemane, N. The effects of season and water availability on chemical composition, secondary metabolites, and biological activity in plants. *Phytochemistry Reviews*, 2018, 17(4), 889-902.

Psotová, J., Klejdus, B., Večeřa, R., Kosina, P., Kubáň, V., Vičar, J., ... & Ulrichová, J. A liquid chromatographic–mass spectrometric evidence of dihydrosanguinarine as a first metabolite of sanguinarine transformation in rat. *Journal of Chromatography B*, 2006, 830(1), 165-172.

Pundir, C. S., & Malik, A. Bio-sensing of organophosphorus pesticides: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 2019, 140, 111348.

Qing, Z. X., Yang, P., Tang, Q., Cheng, P., Liu, X. B., Zheng, Y. J., ... & Zeng, J. G. Isoquinoline alkaloids and their antiviral, antibacterial, and antifungal activities, and structure-activity relationship. *Current Organic Chemistry*, 2017, 21(18), 1920-1934.

QMUL. Queen Mary University of London. Terpenoids. Sesquiterpenoid biosynthesis. 2021a.
<https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/reaction/terp/sesqui.html>

QMUL. Queen Mary University of London. Terpenoids. Monoterpenoid biosynthesis. 2021b.
<https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/reaction/terp/monoterp.html>

QMUL. Queen Mary University of London. Phenolics. Flavonoid biosynthesis. 2021c. <https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/reaction/phenol/flavonoid.html>

Rakotondraibe, L. H., Graupner, P. R., Xiong, Q., Olson, M., Wiley, J. D., Krai, P., ... & Fotso, S. Neolignans and other metabolites from *Ocotea cymosa* from the Madagascar rain forest and their biological activities. *Journal of Natural Products*, 2015, 78(3), 431-440.

Ramos, C. A., González, V. A., Soto, M., Engleman, E. M., & Rodríguez, D. A. Variación en contenido de azadiractina en frutos de margosa durante su desarrollo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 2004, 27(Es1), 81-85.

Rappoport, Z. *The chemistry of phenols*. John Wiley & Sons, 2004.

Rattan, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection*, 2010, 29(9), 913-920.

Razo, S. Chicalote y plantas de protección solar. 2019. Consultado de https://www.academia.edu/8931172/Chicalote_y_plantas_de_proteccion_solar

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2021. <https://www.R-project.org/>.

Reed, L. J., & Muench, H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 1938, 27(3), 493-497.

Rehman J. U., Ali A., Tabanca N., Raman V., Demirci B., Başer K. H. C., Khan, I. A. Biting deterrent and larvicidal activity of essential oils of *Magnolia grandiflora* against *Aedes aegypti*, *8 Planta Med.*, 2013, 79:P20.

Reschiglian, P., Zattoni, A., Torsi, G., & Melucci, D. Quantitative analysis by UV-Vis detection in flow-assisted separation techniques for dispersed samples. *Reviews in Analytical Chemistry*, 2001, 20(4), 239-270.

Rivers, M., Beech, E., Murphy, L., & Oldfield, S. The red list of Magnoliaceae. Revised and extended. Richmond (UK): Botanic Gardens Conservation International. 2016.

Robards, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit, and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1000(1-2), 657–691.

Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. Phenolic compounds, and their role in oxidative processes in fruits. *Food chemistry*, 1999, 66(4), 401-436.

Roberts, M. F. *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*. Springer Science & Business Media, 2013.

Robinson, T. Simple Amino Acid Derivatives and Protoalkaloids. In *The Biochemistry of Alkaloids* (pp. 20-34). Springer, Berlin, Heidelberg, 1981.

Rodríguez Leyes, E. A., González Canavaciolo, V. L., Marrero Delange, D., Adames Fajardo, Y., & Vicente Murillo, R. Contenidos de aceite y de los ácidos láurico y mirístico en frutos maduros de *Roystonea regia* colectados durante dos años. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2010, 15(2), 42-50.

Rueda, S. D., Melgarejo, C. Y. C., Morales, J. M., & Stashenko, E. E. Estudio de la variación circadiana de los metabolitos secundarios volátiles obtenidos por destilación-extracción con solvente simultánea, de hojas de *Lippia alba* (Fam. Verbenaceae). *Scientia et Technica*, 2007, 13(33), 83-85.

Rueffer, M., & Zenk, M. H. Canadine synthase from *Thalictrum tuberosum* cell cultures catalyses the formation of the methylenedioxy bridge in berberine synthesis. *Phytochemistry*, 1994, 36(5), 1219-1223.

Saad, M. M., Abou-Taleb, H. K., & Abdelgaleil, S. A. Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. *Applied Entomology and Zoology*, 2018, 53(2), 173-181.

Saad, M. M., El-Deeb, D. A., & Abdelgaleil, S. A. Insecticidal potential and repellent and biochemical effects of phenylpropenes and monoterpenes on the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26(7), 6801-6810.

Saad, M. M., Gouda, N. A., & Abdelgaleil, S. A. Bioherbicidal activity of terpenes and phenylpropenes against *Echinochloa crus-galli*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2019a, 54(12), 954-963.

SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Michoacán. En 2012 se exportaron 697 mil 779 toneladas de fruta. 2013. Consultado en julio 2021. <https://www.gob.mx/agricultura%7Cmichoacan/articulos/en-2012-se-exportaron-697-mil-779-toneladas-de-fruta>

SADER. Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en el campo. 2019. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUE_N_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf

SADER. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. El rey de las frutas tropicales: Mango. 2020. Consultado en septiembre de 2020. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-rey-de-las-frutas-tropicales-mango?idiom=es>

SAGARPA. Programa de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria. Compendio de indicadores 2016. Componente Sanidad. Campaña fitosanitaria/Moscas de la fruta. 2016.

Consultado en julio de 2021.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/290215/Compendio_de_Indicadores_PSIA_2016_Nayarit.pdf

SAGARPA. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. 2017. Consultado en julio
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/255627/Planeacion_Agricola_Nacional_2017-2030-_parte_uno.pdf

SAGARPA. Guía de identificación para moscas de la fruta. Dirección del Programa Nacional de Moscas de la Fruta. 2018.
http://osiap.org.mx/senasica/sites/default/files/GU_A_DE_IDENTIFICACION_DE_MOSCAS_DE_LA_FRUTA_1.pdf

Saguez, J., Attoumbré, J., Giordanengo, P., & Baltora-Rosset, S. Biological activities of lignans and neolignans on the aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Arthropod-Plant Interactions*, 2013, 7(2), 225-233.

Sakthivadivel, M., & Thilagavathy, D. Larvicidal and chemosterilant activity of the acetone fraction of petroleum ether extract from *Argemone mexicana* L. seed. *Bioresource Technology*, 2003, 89(2), 213-216.

Sargent, J. R., Tocher, D. R., & Bell, J. G. The lipids. *Fish Nutrition*, 2003, 181-257.

Sarker, S. D., & Maruyama, Y. *Magnolia: the genus Magnolia*. CRC Press, 2002.

Sato, F., Hashimoto, T., Hachiya, A., Tamura, K. -i., Choi, K.-B., Morishige, T., ... Yamada, Y. Metabolic engineering of plant alkaloid biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(1), 367-372.

Schieber, A., & Wüst, M. Volatile Phenols—Important Contributors to the Aroma of Plant-Derived Foods. *Molecules*, 2020, 25(19), 4529.

Schijlen, E. G., De Vos, C. R., van Tunen, A. J., & Bovy, A. G. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, 2004, 65(19), 2631-2648.

Schmeller, T., Latz-Brüning, B., & Wink, M. Biochemical activities of berberine, palmatine and sanguinarine mediating chemical defence against microorganisms and herbivores. *Phytochemistry*, 1997, 44(2), 257-266.

Schumacher, H. M., & Zenk, M. H. Partial purification and characterization of dihydrobenzophenanthridine oxidase from *Eschscholtzia californica* cell suspension cultures. *Plant Cell Reports*, 1988, 7(1), 43-46.

Schühly, W., Khan, S. I., & Fischer, N. H. Neolignans from North American *Magnolia* species with cyclooxygenase 2 inhibitory activity. *Inflammopharmacology*, 2009, 17(2), 106-110.

Schutze, M. K., Virgilio, M., Norrbom, A., & Clarke, A. R. Tephritid integrative taxonomy: Where we are now, with a focus on the resolution of three tropical fruit fly species complexes. *Annual Review of Entomology*, 2017, 62, 147-164.

Schwarzbach, A. E., & Kadereit, J. W. Phylogeny of prickly poppies, *Argemone* (Papaveraceae), and the evolution of morphological and alkaloid characters based on ITS nrDNA sequence variation. *Plant Systematics and Evolution*, 1999, 218(3), 257-279.

Seger, C., Sturm, S., & Stuppner, H. Mass spectrometry and NMR spectroscopy: modern high-end detectors for high resolution separation techniques—state of the art in natural product HPLC-MS, HPLC-NMR, and CE-MS hyphenations. *Natural Product Reports*, 2013, 30(7), 970-987.

Selfa, J., & Anento, J. L. Plagas agrícolas y forestales. *Bol. SEA.*, 1997, 20, 75-91.

SENASICA. Manual técnico para las operaciones de campo de la campaña nacional contra moscas de la fruta. Sección I. Trampeo y muestreo de frutos. 2017a. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/262603/MT_Operaciones_de_campo_CNMF_Secci_n_I_TyM.pdf

SENASICA. Manual técnico para las operaciones de campo de la campaña nacional contra moscas de la fruta. Sección II. Control mecánico. 2017b. Consultado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/239236/MT_Operaciones_de_campo_CNMF_Secci_n_III_CM.pdf

SENASICA. Manual técnico para las operaciones de campo de la campaña nacional contra moscas de la fruta. Sección III. Control biológico. 2017c. Consultado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/497762/Manual_Tecnico_CNMF_Control_Biologico.pdf

SENASICA. Manual técnico para las operaciones de campo de la campaña nacional contra moscas de la fruta. Sección V. Control autocida. 2017d. Consultado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/262619/MT_Operaciones_de_campo_CNMF_Secci_n_V_CA.pdf

SENASICA. Manual técnico para las operaciones de campo de la campaña nacional contra moscas de la fruta. Sección II. Control químico. 2017e. Consultado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/501537/CIRCULAR-114-OF-09309-Manual_control_qu_mico__anexo__1.pdf

SENASICA. Moscas nativas de la fruta. 2020. Consultado en julio de 2021 de <https://www.gob.mx/senasica/documentos/moscas-nativas-de-la-fruta-110869>

SENASICA. Servicio Nacional de Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Campañas y programas fitosanitarios. 2021. Consultado en julio 2021. <https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/campanas-fitosanitarias>

Seo, S.-M., Jung, C.-S., Kang, J., Lee, H.-R., Kim, S.-W., Hyun, J., & Park, I.-K. Larvicidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Apiaceae plant essential oils and their constituents against *Aedes albopictus* and formulation development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(45), 9977–9986.

Shahriari, M., Sahebzadeh, N., & Zibae, A. Effect of *Teucrium polium* (Lamiaceae) essential oil on digestive enzyme activities and energy reserves of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Invertebrate Survival Journal*, 2017, 14(1), 182-189.

Shahriari, M., Zibae, A., Sahebzadeh, N., & Shamakhi, L. Effects of α -pinene, trans-anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2018.

Shamma, M. The isoquinoline alkaloids chemistry and pharmacology (Vol. 25). Elsevier, 2012.

Shamma, M., & Slusarchyk, W. A. The aporphine alkaloids. *Chemical Reviews*, 1964, 64(1), 59-79.

Sharma, M., Khan, A.A., Dohhen, K.C. A Heterogeneous Catalyst for Transesterification of *Argemone mexicana* Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2012, 89, 1545–1555.

Shang, X. F., Yang, C. J., Morris-Natschke, S. L., Li, J. C., Yin, X. D., Liu, Y. Q., ... & Lee, K. H. Biologically active isoquinoline alkaloids covering 2014–2018. *Medicinal Research Reviews*, 2020, 40(6), 2212-2289.

Shivanandappa, T., & Rajashekar, Y. Mode of action of plant-derived natural insecticides. In *Advances in plant biopesticides*. Springer, New Delhi, 2014, 323-345.

Shoeva, O. Y., Mock, H. P., Kukoeva, T. V., Börner, A., & Khlestkina, E. K. Regulation of the flavonoid biosynthesis pathway genes in purple and black grains of *Hordeum vulgare*. *PloS One*, 2016, 11(10), e0163782.

Siegwart, M., Graillot, B., Blachere Lopez, C., Besse, S., Bardin, M., Nicot, P. C., & Lopez-Ferber, M. Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6, 381.

SIFATEC. Ficha técnica. Malatión 1000 CE. Insecticida y Acaricida. RSCO-INAC-0143-047-009-084. 2021. Consultado de <https://www.agroinsumosgz.com/assets/ficha-t%C3%A9cnica-malathion.pdf>

Silva, J. G., Dutra, V. S., Santos, M. S., Silva, N. M., Vidal, D. B., Nink, R. A., ... & Araujo, E. L. Diversity of *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) and associated braconid parasitoids from native and exotic hosts in Southeastern Bahia, Brazil. *Environmental Entomology*, 2010, 39(5), 1457-1465.

Silva-Madera, R. J., Salazar-Flores, J., Peregrina-Lucano, A. A., Mendoza-Michel, J., Ceja-Gálvez, H. R., Rojas-Bravo, D., ... & Torres-Sánchez, E. D. Pesticide contamination in drinking and surface water in the Cienega, Jalisco, Mexico. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2021, 232(2), 1-13.

Singh, D. *Advances in plant biopesticides*. Springer, 2014.

Singh, P., Singh, V. K., & Singh, D. K. Effect of binary combination of some plant-derived molluscicides with MGK-264 or piperonyl butoxide on the reproduction of the snail *Lymnaea acuminata*. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 2005, 61(2), 204-208.

Singh, S., & Singh, D. K. Effect of active molluscicidal components of *Abrus Precatorius*, *Argemone mexicana* and *Nerium Indicum* on certain enzymes in the nervous tissue of *Lymnaea Acuminata*. 1999, 186-194.

Smith, B. C. Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy. CRC press, 2011.

Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. Introduction to modern liquid chromatography. John Wiley & Sons, 2011.

Solecka, D., & Kacperska, A. Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold. *Physiologia Plantarum*, 2003, 119(2), 253-262.

Soni, U., Brar, S., & Gauttam, V. K. Effect of seasonal variation on secondary metabolites of medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2015, 6(9), 3654-62.

Soriano, I. R., Asenstorfer, R. E., Schmidt, O., & Riley, I. T. Inducible flavone in oats (*Avena sativa*) is a novel defense against plant-parasitic nematodes. *Phytopathology*, 2004, 94(11), 1207-1214.

Sorarú, S. B. Nota sobre el género *Argemone* (Papaveraceae) en la República Argentina. *Darwiniana*, 1976, 20(3/4), 445-457.

Špičáková, A., Bazgier, V., Skálová, L., Otyepka, M., & Anzenbacher, P. β -caryophyllene oxide and trans-nerolidol affect enzyme activity of CYP3A4-in vitro and in silico studies. *Physiological Research*, 2019, 68, S51-S58.

Sprong, H., van der Sluijs, P., & van Meer, G. How proteins move lipids and lipids move proteins. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2001, 2(7), 504-513.

Stalikas, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 2007, 30(18), 3268–3295.

Stashenko, E., & Martínez, J. Preparación de la muestra: un paso crucial para el análisis por GC-MS. *Scientia Chromatographica*, 2011, 3(1), 25-49.

Staub, A., Schappler, J., Rudaz, S., & Veuthey, J. L. CE-TOF/MS: fundamental concepts, instrumental considerations, and applications. *Electrophoresis*, 2009, 30(10), 1610-1623.

Stavrianidi, A. A classification of liquid chromatography mass spectrometry techniques for evaluation of chemical composition and quality control of traditional medicines. *Journal of Chromatography A*, 2019, 460501.

Steinmann, D., & Ganzera, M. Recent advances on HPLC/MS in medicinal plant analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2011, 55(4), 744-757.

Stiles, E. W. Patterns of fruit presentation and seed dispersal in bird-disseminated woody plants in the eastern deciduous forest. *The American Naturalist*, 1980, 116(5), 670-688.

Stone, A. The fruitflies of the genus *Anastrepha* (No. 439). US Department of Agriculture, 1942.

Strife, R. J., Ketcha, M. M., & Schwartz, J. Multi-stage mass spectrometry for the isolation and structure elucidation of components of a crude extract. *Journal of Mass Spectrometry*, 1997, 32(11), 1226-1235.

Swain, T. *Biochemistry of plant phenolics* (Vol. 12). Springer Science & Business Media, 2013.

Táborský, V. Small-scale processing of microbial pesticides (No. 96). Food & Agriculture Org., 1992.

Talontsi, F. M., Matasyoh, J. C., Ngoumfo, R. M., & Chepkorir, R. Mosquito larvicidal activity of alkaloids from *Zanthoxylum lemairei* against the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 2011, 99(1), 82-85.

Tambun, R., Alexander, V., & Ginting, Y. Performance comparison of maceration method, soxhletation method, and microwave-assisted extraction in extracting active compounds from soursop leaves (*Annona muricata*): A review. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 1122, No. 1, p. 012095). IOP Publishing, 2021, March.

Tanahashi, T., & Zenk, M. H. Elicitor induction and characterization of microsomal protopine-6-hydroxylase, the central enzyme in benzophenanthridine alkaloid biosynthesis. *Phytochemistry*, 1990, 29(4), 1113–1122.

Tanaka, T., Metori, K., Mineo, S., Hirotani, M., Furuya, T., Matsumoto, H., ... & Kobayashi, S. Studies on collagenase inhibitors. IV. Inhibitors of bacterial collagenase in

Coptidis rhizoma. Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 1991, 111(9), 538-541.

Tantillo, D. J. The carbocation continuum in terpene biosynthesis—where are the secondary cations? Chemical Society Reviews, 2010, 39(8), 2847.

Tantillo, D. J. Biosynthesis via carbocations: Theoretical studies on terpene formation. Natural Product Reports, 2011, 28(6), 1035.

Thakur, S., & Sidhu, M. C. Phytochemical screening of leaves and seeds of *Magnolia grandiflora* L. Der Pharmacia Lettre, 2013, 5, 278-82.

Thatheyus, A. J., & Selvam, A. G. Synthetic pyrethroids: toxicity and biodegradation. Applied Ecology and Environmental Sciences, 2013, 1(3), 33-36.

Theis, N., & Lerdau, M. The evolution of function in plant secondary metabolites. International Journal of Plant Sciences, 2003, 164(S3), S93-S102.

The University of Dublin. NMR Sample preparation and analysis. School of Chemistry. 2017. Consulted in https://chemistry.tcd.ie/assets/pdf/js/NMR_sample_prep_data_anlysis_2017.pdf

Thien, L. B., Kawano, S., Azuma, H., Latimer, S., Devall, M. S., Rosso, S., ... & Jobes, D. The floral biology of the Magnoliaceae. In In: Hunt, David, ed. Magnolias and their allies. Proceedings of an International Symposium. Egham, Surrey, UK: Royal Holloway, University of London: 1996, 37-58. (pp. 37-58).

Tholl, D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. In Biotechnology of isoprenoids (pp. 63-106). Springer, Cham., 2015.

Thomas, D. B. Degree-Day accumulations and seasonal duration of the pre-imaginal stages of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist, 1997, 71-79.

Thomas, D. B. Reproductive phenology of the Mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae) in the Sierra Madre Oriental, Northern Mexico. Neotropical Entomology, 2003, 32(3), 385-397.

Timothy, J. G. Microchannel plates for photon detection and imaging in space. In Observing Photons in Space (pp. 391-421). Springer, New York, NY., 2013.

Tims, M. The chemical ecology of *Hydrastis canadensis* L. (Ranunculaceae): Effects of root isoquinoline alkaloids on the *Hydrastis* endophyte, *Fusarium oxysporum*. Doctoral dissertation, 2006.

Torres, A. M., Mau-Lastovicka, T., & Rezaaiyan, R. Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1987, 35(6), 921-925.

Toscano, V. M. Norma Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009. Plaguicidas: que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico. Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud, 2009.

Touchstone, J. C. *Practice of thin layer chromatography*. John Wiley & Sons, 1992.

Traboulsi, A. F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere, J. M., & Rammal, S. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science*, 2002, 58(5), 491-495.

Tringali, C., Spatafora, C., Calì, V., & Simmonds, M. S. Antifeedant constituents from *Fagara macrophylla*. *Fitoterapia*, 2001, 72(5), 538–543.

Tropicos. org. Missouri Botanical Garden. 2021. Consulted of <https://tropicos.org/name/40019079>

Tucuch-Cauich, F. M., Chi-Que, G., & Orona-Castro, F. Dinámica poblacional de adultos de la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha* sp.(Diptera: Tephritidae) en Campeche, México. *Agricultura técnica en México*, 2008, 34(3), 341-347.

Tuveson, R. W., Larson, R. A., Marley, K. A., Wang, G., & Berenbaum, M. R. Sanguinarine, a phototoxic H₂O₂-producing alkaloid. *Photochemistry and Photobiology*, 1989, 50(6), 733–738.

Ueno, S., Pyoyun, P., Tosa, Y., Maoka, T., Kojima, N., Yamashita, M., Inoue, M., & Ueno, T. Mosquito larvicidal and antifungal isoquinoline alkaloids from Papaveraceae. *Japanese Journal of Environmental Entomology and Zoology*, 2019, 30(2), 51-61.

Valares Masa, C. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, 2011.

Valdés-Estrada, M. E., Aldana-Llanos, L., Salinas-Sánchez, D. O., Figueroa-Brito, R., Hernández-Reyes, M. C., & Valladares-Cisneros, M. G. Toxicity of plant extracts to *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, 2016, 226-230.

van der Pijl, L. The Evolution of dispersal organs in general. In *Principles of Dispersal in Higher Plants* (pp. 125-149). Springer, Berlin, Heidelberg, 1982.

Van der Westhuizen, L., & Mpedi, P. The initiation of a biological control programme against *Argemone mexicana* L. and *Argemone ochroleuca* Sweet subsp. *ochroleuca* (Papaveraceae) in South Africa. *African Entomology*, 2011, 19(2), 223–229.

Van Meer, G., Voelker, D. R., & Feigenson, G. W. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(2), 112-124.

Vázquez-García, J. A., Muñoz-Castro, M. Á., Arroyo, F., Pérez, Á. J., Serna, M., Cuevas-Guzmán, R., ... & Gurrola-Díaz, C. M. Novelties in neotropical *Magnolia* and an addendum proposal to the IUCN Red List of Magnoliaceae. Salcedo-Pérez E., E. Hernández-Álvarez, JA Vázquez-García, T. Escoto-García y N. Díaz-Echavarría N.(eds.). *Recursos Forestales en el Occidente de México*, 2013, 4, 461-496.

Vásquez-Morales, S. G., Alvarez Vega, E. A., Infante-Rodriguez, D. A., Huchin-Mian, J. P. & Pedraza-Reyes, M. Insecticide activity and phytochemical screening of *Magnolia*: the fruit fly pest. In press.

Vásquez-Morales, S. G., Flores-Estévez, N., Sánchez-Velásquez, L. R., Pineda-López, M. R., Viveros-Viveros, H., & Díaz-Fleischer, F. Bioprospecting of botanical insecticides: The case of ethanol extracts of *Magnolia schiedeana* Schltl. applied to a Tephritid, fruit fly *Anastrepha ludens* Loew. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2015, 3, 1-5.

Vasseghian, Y., Moradi, M., Pirsaeheb, M., Khataee, A., Rahimi, S., Badi, M. Y., & Khaneghah, A. M. Pesticide decontamination using UV/ferrous-activated persulfate with the aid neuro-fuzzy modeling: a case study of Malathion. *Food Research International*, 2020, 137, 109557.

Vattekatte, A., Garms, S., Brandt, W., & Boland, W. Enhanced structural diversity in terpenoid biosynthesis: enzymes, substrates, and cofactors. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2018, 16(3), 348–362.

Vermerris, W., & Nicholson, R. Phenolic compounds, and their effects on human health. In *Phenolic Compound Biochemistry* (pp. 235-255). Springer, Dordrecht, 2008.

Waage, J. The sustainable management of biodiversity for biological control in food and agriculture: status and needs. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture. FAO., 2001, No. 28. <http://www.fao.org/3/k0150e/k0150e.pdf>

Wahyudi, W., Ohtani, Y., & Ichiura, H. Significant feeding deterrent of berberine from Tali kuning (*Tinospora dissitiflora* Diels) against two subterranean termites *Coptotermes formosanus* Shiraki and *Reticulitermes speratus* Kolbe. *Wood Research Journal*, 2012, 3(1), 18-22.

Waliszewski, S. M., Mario, C. A. B. A., Gomez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Martínez, A., Valencia-Quintana, R., ... & Torres, M. A. R. Niveles de plaguicidas organoclorados en habitantes de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 2013, 29, 121-131.

Wanasundara, P. K. J. P. D., Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. Changes in flax (*Linum usitatissimum* L.) seed lipids during germination. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1999, 76(1), 41-48.

Wang, S. D., Liu, W., Xue, C. B., & Luo, W. C. The effects of luteolin on phenoloxidase and the growth of *Spodoptera exigua* (Hübner) larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pesticide Science*, 2010, 35(4), 483-487.

Wang, X. G., Wei, X. Y., Huang, X. Y., Shen, L. T., Tian, Y. Q., & Xu, H. H. Insecticidal constructure and bioactivities of compounds from *Ficus sarmentosa* var. *henryi*. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10(9), 1402-1409.

Wang, Y., Guo, S., Cao, J., Pang, X., Zhang, Z., Chen, Z., ... & Du, S. Toxic and Repellent Effects of Volatile Phenylpropenes from *Asarum heterotropoides* on *Lasioderma serricorne* and *Liposcelis bostrychophila*. *Molecules*, 2018, 23(9), 2131.

Wang, X. Lipid signaling. *Current opinion in plant biology*, 2004, 7(3), 329-336.

Wang, Z., Perumalsamy, H., Wang, X., & Ahn, Y. J. Toxicity and possible mechanisms of action of honokiol from *Magnolia denudata* seeds against four mosquito species. *Scientific reports*, 2019, 9(1), 1-19.

Wang, Z. Q., Perumalsamy, H., Wang, M., Shu, S., & Ahn, Y. J. Larvicidal activity of *Magnolia denudata* seed hydrodistillate constituents and related compounds and liquid formulations towards two susceptible and two wild mosquito species. *Pest Management Science*, 2016, 72(5), 897-906.

Wang, Z., Perumalsamy, H., Wang, X., & Ahn, Y. J. Toxicity and possible mechanisms of action of honokiol from *Magnolia denudata* seeds against four mosquito species. *Scientific Reports*, 2019, 9(1), 1-19.

Wei, Q. H., Cui, D. Z., Liu, X. F., Chai, Y. Y., Zhao, N., Wang, J. Y., & Zhao, M. In vitro antifungal activity and possible mechanisms of action of chelerythrine. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2020, 164, 140-148.

Weiss, D., Baumert, A., Vogel, M., & Roos, W. Sanguinarine reductase, a key enzyme of benzophenanthridine detoxification. *Plant, Cell & Environment*, 2006, 29(2), 291-302.

White, I. M., & Elson-Harris, M. M. Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics. CAB International, 1992.

Whitehead, S. R., Schneider, G. F., Dybzinski, R., Nelson, A. S., Gelambi, M., Jos, E., & Beckman, N. G. Fruits, frugivores, and the evolution of phytochemical diversity. *Oikos*, 2021.

Wilderman, P. R., Shah, M. B., Jang, H.-H., Stout, C. D., & Halpert, J. R. Structural and thermodynamic basis of (+)- α -pinene binding to human cytochrome P450 2B6. *Journal of the American Chemical Society*, 2013, 135(28), 10433–10440.

Winkler, A., Łyskowski, A., Riedl, S., Puhl, M., Kutchan, T. M., Macheroux, P., & Gruber, K. A concerted mechanism for berberine bridge enzyme. *Nature Chemical Biology*, 2008, 4(12), 739-741.

Willför, S. M., Smeds, A. I., & Holmbom, B. R. Chromatographic analysis of lignans. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1112(1-2), 64-77.

Wink, M. Chemical ecology of alkaloids. In *Alkaloids* (pp. 265-300). Springer, Boston, MA., 1998a.

Wink, M., Schmeller, T., & Latz-Brüning, B. Modes of action of allelochemical alkaloids: interaction with neuroreceptors, DNA, and other molecular targets. *Journal of Chemical Ecology*, 1998b, 24(11), 1881-1937.

Wink, M. Ecological roles of alkaloids. *Modern alkaloids*, 2008, 3-24.

Wright, C. W., Marshall, S. J., Russell, P. F., Anderson, M. M., Phillipson, J. D., Kirby, G. C., ... & Schiff, P. L. In vitro antiplasmodial, antiamoebic, and cytotoxic activities of some monomeric isoquinoline alkaloids. *Journal of Natural Products*, 2000, 63(12), 1638-1640.

Wu, M., Xiong, Y., Han, R., Dong, W., & Xiao, C. Fumigant toxicity and oviposition deterrent activity of volatile constituents from *Asari Radix et Rhizoma* against *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Insect Science*, 2020, 20(6), 32.

Yahyazadeh, M., Ratmoyo, P., Bittner, F., Sato, F., & Selmar, D. Cloning and characterization of cheilanthifoline and stylopine synthase genes from *Chelidonium majus*. *Plant and Cell Physiology*, 2017, 58(8), 1421-1430.

Yahyazadeh, M., Meinen, R., Hänsch, R., Abouzeid, S., & Selmar, D. Impact of drought and salt stress on the biosynthesis of alkaloids in *Chelidonium majus* L. *Phytochemistry*, 2018, 152, 204-212.

Yamada, Y., Yoshimoto, T., Yoshida, S. T., & Sato, F. Characterization of the promoter region of biosynthetic enzyme genes involved in berberine biosynthesis in *Coptis japonica*. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7.

Yao, J. Y., Zhou, Z. M., Li, X. L., Yin, W. L., Ru, H. S., Pan, X. Y., ... & Shen, J. Y. Antiparasitic efficacy of dihydrosanguinarine and dihydrochelerythrine from *Macleaya microcarpa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in richadsin (*Squaliobarbus curriculus*). *Veterinary Parasitology*, 2011, 183(1-2), 8-13.

Yeom, H. J., Jung, C. S., Kang, J., Kim, J., Lee, J. H., Kim, D. S., ... & Park, I. K. Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of Asteraceae plant essential oils and their constituents against adults of the German cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(8), 2241-2248.

Yeom, H. J., Kang, J. S., Kim, G. H., & Park, I. K. Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of Apiaceae plant essential oils and their constituents against adults of German cockroach (*Blattella germanica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(29), 7194-7203.

Ye, Y. H., Li, C., Yang, J., Ma, L., Xiao, Y., Hu, J., ... & Wang, M. H. Construction of an immobilized acetylcholinesterase column and its application in screening insecticidal constituents from *Magnolia officinalis*. *Pest Management Science*, 2015, 71(4), 607-615.

Yubin, J. I., Miao, Y., Bing, W., & Yao, Z. The extraction, separation, and purification of alkaloids in the natural medicine. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2014, 6(1), 338-345.

Zarrad, K., Hamouda, A. B., Chaieb, I., Laarif, A., & Jemâa, J. M.-B. Chemical composition, fumigant, and anti-acetylcholinesterase activity of the Tunisian *Citrus aurantium* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 2015, 76, 121–127.

Zehetner, P., Höferl, M., & Buchbauer, G. Essential oil components and cytochrome P450 enzymes: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 2019, 34(4), 223-240.

Zavala, E. R. NOM-032-FITO-1995. Norma Oficial Mexicana, por la que se establecen los requisitos y especificaciones fitosanitarios para la realización de estudios de efectividad biológica de plaguicidas agrícolas y su dictamen técnico. *Diario Oficial de la Federación*. 1995. <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/fito/fito032.pdf>

Zhang, G., & You, M. Measurement of active ingredient of *Macleaya cordata* and its bioactivity against insects. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2009a, 36(1), 18-21.

Zhang, J., Subramanian, S., Stacey, G., & Yu, O. Flavones and flavonols play distinct critical roles during nodulation of *Medicago truncatula* by *Sinorhizobium meliloti*. *The Plant Journal*, 2009b, 57(1), 171-183.

Zhang, M., Han, Z., Zhang L., Luo, Y., & Ma, L. Phytochemical screening and analysis of amino acids of *Magnolia officinalis* seeds. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2018. Volume 4; Issue 1; January 2019; Page No. 01-05.

Zhang, Z., Xie, Y., Wang, Y., Lin, Z., Wang, L., & Li, G. Toxicities of monoterpenes against housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(31), 24708-24713.

Zhao, Z. M., Shang, X. F., Lawoe, R. K., Liu, Y. Q., Zhou, R., Sun, Y., ... & Yang, C. J. Anti-phytopathogenic activity and the possible mechanisms of action of isoquinoline alkaloid sanguinarine. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 159, 51-58.

Zheng, T., Zahm, S. H., Cantor, K. P., Weisenburger, D. D., Zhang, Y., & Blair, A. Agricultural exposure to carbamate pesticides and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 2001, 43(7), 641-649.

Zheng, Y. F., Liu, X. M., Zhang, Q., Lai, F., & Ma, L. Constituents of the essential oil and fatty acid from rare and endangered plant *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 2019, 22(1), 141-150.

Zhou, H. Y., Zhao, N. N., Du, S. S., Yang, K., Wang, C. F., Liu, Z. L., & Qiao, Y. J. Insecticidal activity of the essential oil of *Lonicera japonica* flower buds and its main constituent compounds against two grain storage insects. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2012, 6(5), 912-917.

Zhu, L., & Tian, Y. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Artemisia gilvescens* against *Anopheles anthropophagus*. *Parasitology Research*, 2013, 112(3), 1137-1142.

Zidorn, C. Altitudinal variation of secondary metabolites in flowering heads of the Asteraceae: trends and causes. *Phytochemistry Reviews*, 2010, 9(2), 197-203.

Ziegler, J., & Facchini, P. J. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. *Annual Review Plant Biology*, 2008, 59, 735-769.

Zimmermann, S., Krippner, P., Vogel, A., & Müller, J. Miniaturized flame ionization detector for gas chromatography. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2002, 83(1-3), 285-289.

Zohra, S. F., Meriem, B., Samira, S., & Muneer, M. A. Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *Journal of Natural Products and Plant Resources*, 2012, 2(4), 512-6.

Zou, C., Wang, Y., Zou, H., Ding, N., Geng, N., Cao, C., & Zhang, G. Sanguinarine in *Chelidonium majus* induced antifeeding and larval lethality by suppressing food intake and digestive enzymes in *Lymantria dispar*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2019, 153, 9-16.

Zubarev, R. A., & Makarov, A. Orbitrap mass spectrometry. *American Chemical Society*, 2013, 5288-5296.

Zuk, M., Szperlik, J., Hnitecka, A., & Szopa, J. Temporal biosynthesis of flavone constituents in flax growth stages. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 142, 234-245.

APÉNDICES

Tabla 4.1. Número total de compuestos encontrados en las semillas de cuatro especies de *Argemone*.

Número	Compuesto	Clase de compuesto	(1)	(2)	(3)	(4)
	Alcaloides					
1	Dihydrosanguinarine	Benzofenantridina			x	x
2	Dihydrochelerithrine	Benzofenantridina			x	x
3	Dihydropalmatine	Protoberberina			x	
4	Allocryptopine	Protopina			x	
5	Protopine	Protopina			x	x
6	Sanguinarine	Benzofenantridina	x		x	x
7	Copsitine	Protoberberina	x		x	
8	Chelerethrine	Benzofenantridina			x	x
9	Berberine	Protoberberina	x		x	x
	Lípidos					
10	Lauric acid (12:0)	Ácidos graso			x	
11	Cis-10-Pentadecenoic (15:1)	Ácidos graso			x	
12	Palmitic acid (16:0)	Ácidos graso	x	x	x	
13	Heptadecanoic acid (17:0)	Ácidos graso			x	
14	Cis-10-heptadecanoic (17:1)	Ácidos graso			x	
15	Stearic acid (18:0)	Ácidos graso	x	x	x	
16	Oleic acid (18:1)	Ácidos graso	x	x	x	
17	Linoleic acid (18:2)	Ácidos graso	x	x	x	
18	Linolenic acid (18:3)	Ácidos graso	x		x	
19	Arachidic acid (20:0)	Ácidos graso			x	
20	Gadoleic acid (20:1)	Ácidos graso			x	

21	Eicosapentaenoic (20:5n3)	Ácidos graso			x	
22	Heneicosanoic acid (21:0)	Ácidos graso			x	
23	Erucic acid (21:1)	Ácidos graso			x	
24	Behenic acid (22:0)	Ácidos graso			x	
25	Cis-13,16- docosadienoic (22:2n6)	Ácidos graso			x	
26	Docosahexaenoic (22:6n3)	Ácidos graso			x	
27	Tricosanoic acid (23:0)	Ácidos graso			x	
	Flavonoides					
28	Luteolin	Flavona			x	
29	Eriodictyol	Flavanona			x	
30	5, 7, 2', 6'- tetrahydroxyflavone (argemexitin)	Flavona			x	
31	5,7- Dihydrochromone7- neohseperidose	Cromona			x	

(1) *Argemone platyceras* (Hakim, *et al* 1961; Marin, *et al* 1989)

(2) *Argemone grandiflora* (Marin, *et al* 1989)

(3) *Argemone mexicana* (Harborne & Williams, 1983; Hakim, *et al* 1997; Bhardwaj, *et al* 1982; Marin, *et al* 1989; Fletcher, *et al* 1993; Gobato, *et al* 2015)

(4) *Argemone ochroleuca* (Fletcher, *et al* 1993)

Tabla 4.2. Número total de compuestos encontrados en frutos y semillas completos y sarcotesta de cinco especies de *Magnolia*.

No.	Estructura vegetativa	Clase de compuesto	Fruto completo	Semillas			Sarcotesta
				(1)	(2)	(3)	
	Compuesto		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
	Monoterpenos						
1	α -pinene	Monoterpeno		x		x	x
2	p-menth-2-ene	Monoterpeno					x
3	β -pinene	Monoterpeno		x		x	
4	Geranyl acetone	Monoterpeno	x				
5	Myrcene (β -myrcene)	Monoterpeno		x			x
6	Terpine-4-ol	Monoterpeno			x		
7	α -phellandrene	Monoterpeno		x			x
8	Limonene	Monoterpeno		x	x	x	
9	camphene	Monoterpeno				x	
10	β -phellandrene	Monoterpeno		x			x
11	α -terpinene	Monoterpeno			x		x
12	p-cymene	Monoterpeno	x	x	x		
13	cis- β -ocimene	Monoterpeno					x
14	α -terpineol	Monoterpeno			x	x	x
15	γ -terpinene	Monoterpeno			x		x
16	Terpinolene	Monoterpeno					x
17	Cyclocolorenone	Monoterpeno	x				
18	Artemesia alcohol	Monoterpeno					x
19	Borneol	Monoterpeno				x	
20	Bornil acetato	Monoterpeno	x	x		x	
21	Linalool (β -linalool)	Monoterpeno	x			x	x
22	Eucalyptol (1,8-cineole)	Monoterpeno		x			
23	cis-4-thujanol	Monoterpeno					x
	Sesquiterpenos						

24	Aristolone	Sesquiterpeno	x				
25	Acoradiene	Sesquiterpeno					x
26	Isoledene	Sesquiterpeno	x				x
27	α -trans-bergamotene	Sesquiterpeno	x	x			
28	Neryl propanoate	Sesquiterpeno	x				
29	Germacrene D	Sesquiterpeno	x				
30	trans- β -guaiene	Sesquiterpeno	x				
31	Bicyclogermacrene	Sesquiterpeno	x				
32	Germacrene B	Sesquiterpeno	x				
33	Isobicyclogermacrenal	Sesquiterpeno	x				
34	α -ylangene	Sesquiterpeno		x			
35	α -copaene	Sesquiterpeno		x			x
36	α -caryophyllene (α -humulene)	Sesquiterpeno	x	x	x	x	
37	β -caryophyllene	Sesquiterpeno	x	x	x	x	
38	Sesquisabinene	Sesquiterpeno		x			
39	Humulene epoxide II	Sesquiterpeno	x				
40	Cis- β -farnesene	Sesquiterpeno					x
41	β -farnesene	Sesquiterpeno		x			
42	β -elemene	Sesquiterpeno	x				
43	γ -Elemene	Sesquiterpeno	x				
44	γ -muurolene	Sesquiterpeno		x			
45	Globulol	Sesquiterpeno	x				
46	α -muurolene	Sesquiterpeno		x			
47	β -Selinene	Sesquiterpeno	x	x			
48	α -Selinene	Sesquiterpeno		x			
49	γ -Selinene (Eudesma-4(14),7(11)-diene)	Sesquiterpeno				x	
50	7(14)-isodaucen-10-one (Salvial-4(14)-ene-1-one)	Sesquiterpeno	x				
51	δ -cadinene	Sesquiterpeno	x	x			x
52	γ -cadinene	Sesquiterpeno	x	x			

53	caryophyllene oxide	Sesquiterpeno	x	x		x	
54	14-hydroxy-Z-caryophyllene	Sesquiterpeno	x				
55	14-hydroxy-9-epi-E-caryophyllene	Sesquiterpeno	x				
56	Guaiol	Sesquiterpeno	x				x
57	(E)- α -bisabolene	Sesquiterpeno		x			
58	Cadina 1,4-diene (Cubenene)	Sesquiterpeno		x			
59	14-hydroxy- δ -cadinene	Sesquiterpeno	x				
60	Calamenene	Sesquiterpeno		x			
61	β -bisabolene	Sesquiterpeno	x		x		x
62	α -calacorene	Sesquiterpeno	x	x			
63	(E)-nerolidol	Sesquiterpeno		x	x	x	
64	E-nerolidyl acetate	Sesquiterpeno	x				
65	Khusilal	Sesquiterpeno	x				
66	Khusinol acetate	Sesquiterpeno	x				
67	T-cadinol (τ -cadinol)	Sesquiterpeno		x			
68	T-muurolol	Sesquiterpeno		x			
69	14-hydroxy- α -muurolene	Sesquiterpeno	x				
70	α -acorenol	Sesquiterpeno	x				
71	Ar-curcumene	Sesquiterpeno	x			x	
72	Mustakone	Sesquiterpeno	x				
73	α -cadinol	Sesquiterpeno		x			
74	Aromadendrene oxide	Sesquiterpeno				x	
75	Carissone	Sesquiterpeno	x				
76	Cadale (1,6-dimetil-4-(1-metiletil)-naftalene)	Sesquiterpeno		x			
77	α -cubebene	Sesquiterpeno	x	x			
78	β -cubebene	Sesquiterpeno	x				

79	α -eudesmol	Sesquiterpeno	x			x	
80	β -eudesmol	Sesquiterpeno	x				
81	Amorpha-4,9-dien-2-ol	Sesquiterpeno	x				
82	Amorpha-4,9-dien-14-al	Sesquiterpeno	x				
83	Spathulenol	Sesquiterpeno	x				
84	Michelenolide	Sesquiterpeno	x				
85	Parthenolide	Sesquiterpeno	x				
	Fenólicos						
86	2,4-di-tert-butylphenol	Fenilpropeno			x		
87	3-O-caffeoylquinic acid	Ácido fenólico				x	
88	Eugenol neolignano	Fenilpropeno		x			
89	Metil chavicol (Estragole)	Fenilpropeno		x		x	
90	Chavicol (4-(2-propenil)-fenol)	Fenilpropeno		x			
91	Honokiol (3',5-Di-2-propenyl-[1,1'-biphenyl]-2,4'-diol)	Neolignano	x	x	x	x	
92	Magnolol (5,5'-Di-2-propenyl-[1,1'-biphenyl]-2,2'-diol)	Neolignano	x	x		x	
93	4-O-metilhonokiol (3',5-di-2-propenyl-4'-metoxi-[1,1'-biphenyl]-2-ol)	Neolignano		x			
94	Methoxylated magnolol ([5,5'-Di-2-propenyl-3-methoxy-	Neolignano		x			

	[1,1'-biphenyl]-2,2'-diol)						
95	Grandiflora lignan (4 α ,9 β -dihydro-8,9 β -di-2-propenyl-(4H)-dibenzofuran-3-one)	Neolignano		x			
96	Bishonokiol	Neolignano		x			
97	Magnovatin A	Lignano	x				
98	Magnovatin B	Lignano	x				
99	Acuminatin	Neolignano	x				
100	Licarin A	Neolignano	x				
101	Oleiferin A	Neolignano	x				
102	Oleiferin C	Lignano	x				
103	Kadsurenin M	Lignano	x				
104	4-O-demethylkadsurenin M	Neolignano	x				
105	7-epi-virolin	Neolignano	x				
	Alcaloides						
106	Lysicamine	Aporfina	x				
107	Lanuginosine	Aporfina	x				
108	O-methylmoschatoline	Aporfina	x				
	Lípidos						
109	Geranic acid	Ácido graso			x		
110	Tetradecanoic acid ()	Ácido graso		x			
111	Pentadecanoic acid (C15:0)	Ácido graso					x
112	Hexadecanoic acid ()	Ácido graso	x	x	x		x
113	Hexadecenoic acid (C16:1)	Ácido graso					

114	Heptadecanoic acid (C17:0)	Ácido graso					x
115	Octadecanoic acid (C18:0)	Ácido graso					x
116	Octadecenoic acid (C18:1)	Ácido graso					x
117	Linoleic acid	Ácido graso	x		x		x
118	Arachidic acid (C20:0)	Ácido graso					
119	Gondoic acid (C20:1)	Ácido graso					x
120	Heneicosanoic acid (C21:0)	Ácido graso					
121	Behenic acid (C22:0)	Ácido graso				x	x
122	Methyl palmitate	Ácido graso		x			
123	Methyl oleate	Ácido graso		x			
124	Methyl linoleate	Ácido graso		x			
125	Ethyl palmitate	Ácido graso		x	x		
126	Butyl heptanoate	Ácido graso	x				
127	2-Monoolein	Ácido graso		x			
128	Methyl linolelaidate	Ácido graso			x		
129	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid methyl ester	Ácido graso		x			
130	2,3-Dihydroxy-anti-oleic acid ester	Ácido graso		x			
131	Ethyl 2-methylbutyrate	Ácido graso		x			
132	Androsta-1,4,6-triene-3,17-dione	Esterol		x			
133	Equilenin	Esterol		x			
	Otros compuestos orgánicos						
134	Isobutil isobutirato	Éster		x			

135	Propyl methylbutyrate	2-	Éster		x			
136	Isobutil metilbutirato	2-	Éster		x			
137	Isobutil metilbutirato	3-	Éster		x			
138	Butil 2-metilbutirato		Éster		x			
139	2-metilbutil metilbutirato	2-	Éster		x			
140	2-metilbutil isovalerato		Éster		x			
141	4-isopropyltoluene		Aromático				x	
142	2-(4-isobutylphenyl) propionaldehyde		Aromático				x	
143	heptacosane		Alcano		x			
144	heneicosane		Alcano		x			
145	13-methylheptacosane		Alcano		x			
146	1-octanol		Alcohol		x			
147	1-octadecanol		Alcohol	x				
148	1-decanol		Alcohol		x			
149	1-hexadecanol		Alcohol	x				
150	n-hexadecane		Alcano			x		
151	2-pentadecanone		Cetona	x				
152	1-pentadecanol		Alcohol	x				
153	13-ethyl-3-hydroxy-(14 β)-gona-1,3,5,7,9-pentaen-17-ketone		Cetona					
154	Benzyl hexanoate		Éster aromático					x
155	Naphthalene		Aromatico	x				
156	Perylene		Aromático		x			

(1) *Magnolia ovata* (Barros, et al 2012)

(2) *Magnolia grandiflora* (Li, et al 2015; Schühly, et al 2009)

(3) *Magnolia denudata* (Wang, et al 2019; Wang, et al 2016; Luo, 2012; Garza, et al 2019; Ali, 2020)

(4) *Magnolia officinalis* (Jing, et al 2015)

(5) *Magnolia kwangsiensis* (Zheng, et al 2019)

Tabla 4.3. Porcentajes de composición de compuestos fenólicos y alcaloides de *Magnolia*. Los valores están ordenados de mayor a menor.

Compuestos fenólicos y alcaloides									
Fruto completo		Semillas		Semillas		Semillas		Sarcotesta	
<i>M. ovata</i>		<i>M. grandiflora</i>		<i>M. denudate</i>		<i>M. officinalis</i>		<i>M. kwangsiensis</i>	
Compuesto	(%)	Compuest	(%)	Compuest	(%)	Compuest	(%)	Compuest	(%)
		o		o		o		o	
Lisicamina	0,0057	4-O-metilhonokiol	6	2,4-Di-tert-butilfenol	2,43	3-O-ácido cafeoilquínico	NO	NE	
oleiferin C	0,0051	Metilchavicol (Estragole)	2,6	Honokiol	0,216	Honokiol	NO		
licarin A	0,0038	Eugenol	1,3			Magnolol	NO		
oleiferin A	0,0032	Magnolol	1,225			Magnolol metoxilado	NR		
Lanuginosina	0,0028	Honokiol	0,94						

magnovatin A	0,0028	Lignano grandiflora	0,72						
O-metil-moschatolina	0,0023	Chavicol (4-(2-profenil)-fenol)	0,27-0,7						
kadsurenin M	0,0017	Bishonolol	0,019						
Acuminatin	0,0017	Magnolol metoxilado	NR						
7-epi-virolin	0,0015								
magnovatin B	0,0014								
4-O-demetil-kadsurenin M	0,0012								
Totales	<10%	Totales	---	Totales	---	Totales	---	Totales	---

Universidad de Guanajuato
División de Ciencias Naturales y Exactas.
Departamento de Biología. Gto., Gto.