



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

“Actividad insecticida e insectistática del extracto metanólico de las partes aéreas de *Crataegus mexicana* (Rosales: Rosaceae) y del ácido oleanólico contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

I.Q.A. Karla Hernández Caracheo

Dirigido por

Dr. Miguel Angel Ramos López

Santiago de Querétaro, Qro, 4 de diciembre 2023.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Actividad insecticida e insectistática del extracto
metanólico de las partes aéreas de *Crataegus*
mexicana (Rosales: Rosaceae) y del ácido oleanólico
contra *Spodoptera frugiperda*
(Lepidoptera: Noctuidae)

por

Karla Hernández Caracheo

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-246042



Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de
Química
Maestría en Ciencia y Tecnología Ambiental

” Actividad insecticida e insectistática del extracto metanólico
de las partes aéreas de *Crataegus mexicana* (Rosales:
Rosaceae) y del ácido oleanólico contra *Spodoptera
frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

I.Q.A. Karla Hernández Caracheo

Dirigido por

Dr. Miguel Angel Ramos López

Sinodales

Dr. Miguel Angel Ramos López
Presidente

Dr. Carlos Eduardo Zavala Gómez
Secretario

Dr. Eloy Rodríguez de León
Vocal

Dr. Juan Campos Guillen
Suplente

Dr. Aldo Amaro Reyes
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro,
5 de diciembre de 2023
México

Con todo amor y cariño a mis padres, por apoyarme y creer en mi en todo momento, sin ustedes no lo habría logrado.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por la beca 1141451 para el desarrollo de la presente investigación.

A los integrantes de mi comité por sus apreciables aportaciones, especialmente al Dr. Miguel Ramos por la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo, la paciencia y sabiduría que me ha aportado.

A mis compañeros del Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas por el apoyo brindado durante mi estancia en él.

A Benjamín por siempre estar a mi lado.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	Vi
RESUMEN	1
1.INTRODUCCIÓN	3
2.ANTECEDENTES	4
2.1 Maíz	4
2.1.1 Generalidades del maíz	4
2.1.2 Biología del maíz	4
2.1.3 Importancia del maíz	5
2.1.4 Principales plagas que afectan el cultivo del maíz	6
2.2 <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
2.2.1 Generalidades de <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
2.2.2 Distribución	7
2.2.3 Ciclo de vida de <i>Spodoptera frugiperda</i>	8
2.2.4 Morfología de <i>Spodoptera frugiperda</i>	8
2.2.4.1 Huevo	9
2.2.4.2 Larva	9
2.2.4.3 Pupa	9
2.2.4.4 Adulto	9
2.2.5 Afectaciones a los cultivos	9
2.3 Métodos de manejo de <i>Spodoptera frugiperda</i>	10
2.3.1 Manejo Integrado de Plagas	10
2.3.2 Manejo mecánico	10
2.3.3 Manejo físico	10
2.3.4 Manejo químico	10
2.3.5 Manejo biológico	11
2.3.6 Manejo botánico	11

2.4 Rosáceas con actividad contra artrópodos	
2.5 <i>Crataegus mexicana</i>	13
2.5.1. Generalidades y aplicaciones de <i>Crataegus mexicana</i>	13
2.5.2 Taxonomía	13
2.5.3 Distribución	14
2.5.4 Metabolitos secundarios presentes en <i>Crataegus mexicana</i>	14
2.5.5 Ácido oleanólico	15
2.5.6 Terpenos con actividad insecticida e insectistática	15
3. Hipótesis	17
4. Objetivos	18
4.1 Objetivo general	18
4.2 Objetivos específicos	18
5. Metodología	19
5.1 Sitio de estudio	20
5.2 Cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> en condiciones de laboratorio	20
5.3 Obtención del extracto metanólico de <i>Crataegus mexicana</i>	20
5.3.1 Colecta de material vegetal	20
5.3.2 Obtención de extractos de hojas y tallos de <i>Crataegus mexicana</i>	21
5.4 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática del extracto metanólico de hojas y tallos <i>Crataegus mexicana</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	22
5.5 Identificación de ácido oleanólico en el extracto metanólico de <i>Crataegus mexicana</i> que presente mayor actividad biológica contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	22
5.6 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática del ácido oleanólico contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	23

5.7 Análisis estadístico	
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1 Actividad insecticida e insectistática de los extractos metanólicos de <i>Crataegus mexicana</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	25
6.2 Identificación y cuantificación del ácido oleanólico	32
6.3 Actividad insecticida e insectistática del ácido oleanólico	42
7. CONCLUSIONES	54
8. PERSPECTIVAS	
9. REFERENCIAS	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales plagas y etapa fenológica del maíz con mayor incidencia	6
Cuadro 2. Ingredientes para la preparación de 1 kg de dieta artificial (Ramos-López et al., 2010)	20
Cuadro 3 Rendimiento de los extractos de <i>Crataegus mexicana</i>	24
Cuadro 4 Peso de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> tratadas con extractos metanólicos de tallos de <i>Crataegus mexicana</i>	22
Cuadro 5 Peso de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> tratadas con extracto metanólico de hojas de <i>Crataegus mexicana</i>	23
Cuadro 6. Actividad insecticida del extracto metanólico de tallos de Huasca (Ts1)	24
Cuadro 7 Actividad insecticida del extracto metanólico de tallos de Comonfort (Ts2)	26
Cuadro 8. Actividad insecticida del extracto metanólico de hojas de Huasca (Hs1)	27
Cuadro 9. Actividad insecticida del extracto metanólico de hojas de Comonfort (Hs2)	33
Cuadro 10. Actividad insectistática del extracto metanólico de tallos de <i>Crataegus mexicana</i> de Huasca (Ts1)	38
Cuadro 11 Actividad insectistática del extracto metanólico de tallos de <i>Crataegus mexicana</i> de Comonfort (TS2)	39
Cuadro 12 Actividad insectistática del extracto metanólico de hojas de <i>Crataegus mexicana</i> de Huasca (Hs1)	40
Cuadro 13. Actividad insectistática del extracto metanólico de hojas de <i>Crataegus mexicana</i> de Comonfort (Hs2)	40
Cuadro 14. Datos de concentración y áreas bajo la curva para ácido oleanólico	41
Cuadro 15. Datos de concentración y áreas bajo la curva para ácido ursólico	53

Cuadro 16. Concentración del ácido ursólico y oleanólico en tallo y hojas de <i>Crataegus mexicana</i> .	54
Cuadro 17. Actividad insecticida del ácido oleanólico	56
Cuadro 18. Actividad insectistática del ácido oleanólico	

0

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biología del maíz (García-Alanís et al., 2019)	5
Figura 2. Larva de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Fuente propia)	7
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Pionner, 2017).	8
Figura 4. <i>Crataegus mexicana</i> “tejocote” (Naturalista, 2016)	13
Figura 5. Ácido oleanólico (Castellano et al., 2022).	15
Figura 6. Larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> en condiciones de laboratorio	19
Figura 7. Secado del material vegetal de <i>Crataegus mexicana</i>	20
Figura 8. Extracción a reflujo con metanol	20
Figura 9. Eliminación del solvente en los extractos de <i>Crataegus mexicana</i>	20
Figura 10. Larvas muertas con los tratamientos 7000 y 10000 ppm del extracto Ts1	27
Figura 11. Larva muerta con el tratamiento de 10000 ppm del extracto Hs2	28
Figura 12. Curva de calibración de ácido oleanólico.	42
Figura 13. Curva de calibración de ácido ursólico.	43
Figura 14. Cromatograma del extracto metanólico TS1.	43
Figura 15. Cromatograma del extracto metanólico Ts2	44
Figura 16. Cromatograma del extracto metanólico HS1.	44
Figura 17. Cromatograma del extracto metanólico HS2.	45

RESUMEN

En México es muy importante el manejo de *Spodoptera frugiperda* debido a las pérdidas económicas que genera esta plaga, para su manejo se emplean plaguicidas químicos sintéticos, sin embargo, su uso indiscriminado provoca afectaciones al ambiente y efectos toxicológicos en seres humanos, por lo que se buscan nuevas alternativas para disminuir el impacto ambiental. Los extractos botánicos tienen la capacidad de sintetizar metabolitos secundarios que les dotan de propiedades insecticidas. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad insecticida e insectistática de los extractos de tallos y de hojas de *Crataegus mexicana*, así como del ácido oleanólico contra *Spodoptera frugiperda*. Los extractos Ts1 y Hs2 mostraron actividad insecticida a partir de 7000 ppm, por otro lado, todos los extractos mostraron actividad insectistática y antialimentaria debido a que el peso larval disminuyó en un 87% a 10000 ppm, el peso pupal disminuyó en hasta un 51.2 %, en Ts1 la duración acumulada aumentó hasta un 69.56 %. La identificación del ácido oleanólico y ursólico está asociada a la actividad insectistática de los extractos. El ácido oleanólico presentó actividad insectistática y antialimentaria, el peso larval a los 10 d disminuyó hasta 84.5 % mientras que el peso pupal en un 28.2 % a 10000 ppm.

Palabras clave: Control botánico, gusano cogollero, tejocote, triterpeno, ácido oleanólico

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

ABSTRACT

In Mexico, the management of *Spodoptera frugiperda* is very important due to the economic losses generated by this pest. Synthetic chemical pesticides are used for its management; however, its indiscriminate use causes damage to the environment and toxicological effects on humans, For this reason, new alternatives are sought to reduce the environmental impact.

Botanical extracts could synthesize secondary metabolites that give them insecticidal properties. The objective of this work was to determine the insecticidal and insectstatic activity of extracts of stems and leaves of *Crataegus mexicana* as well as oleanolic acid against *Spodoptera frugiperda*. Extracts Ts1 and Hs2 showed insecticidal activity starting at 7000 ppm, on the other hand, all extracts showed insectstatic and antifeedant activity because the larval weight decreased by 87 % at 10000 ppm, the pupal weight decreased by up to 51.2 %, in Ts1 the accumulated duration increased up to 69.56 %. The identification of oleanolic and ursolic acid is associated with the insectstatic activity of the extracts. The oleanolic acid presented insectstatic and antifeedant activity, the larval weight at 10 d decreased up to 84.5 % while the pupal weight decreased by 28.2 % at 10,000 ppm.

Keywords: Botanical control, fall armyworm, tejocote, triterpene, oleanolic acid

1.INTRODUCCIÓN

La producción de cultivos es de suma importancia a nivel económico e incluso algunas especies como el maíz llegan a ser de importancia cultural y nutricional (Jaramillo-Albuja et al., 2018). Las principales amenazas para el cultivo de maíz son las plagas donde se destaca a *Spodoptera frugiperda* o comúnmente llamado “gusano cogollero del maíz” como la principal (SADER, 2021; Hernández-Trejo et al., 2020). Para controlar esta plaga el método más común es el uso de plaguicidas químicos sintéticos, los cuales por lo regular son aplicados en cantidades excesivas debido al supuesto de que esto genera un mejor control sobre la plaga (Hernández-Trejo et al., 2019; CNRF, 2021). El uso indiscriminado de plaguicidas químicos sintéticos provoca graves problemas ambientales debido a que estas sustancias están sintetizadas para presentar persistencia, por lo que su acumulación en el ambiente representa un foco de contaminación y de toxicidad para otros organismos que no son los insectos plaga e incluso se han reportado muertes humanas asociadas a la exposición a estas sustancias (Paredes-Sánchez et al., 2021). Ante los problemas ambientales y de salud que estas sustancias pueden provocar, se han propuesto diferentes métodos de control de este insecto con un menor impacto ambiental, como por ejemplo los plaguicidas de origen botánico (Figueroa-Gualteros, 2019). Estos surgen debido a que las plantas tienen la capacidad de sintetizar diferentes metabolitos secundarios; los principales compuestos bioactivos que presentan actividad insecticida son fenoles, flavonoides y terpenos (Santos-Alves, 2018). Por lo que la presente investigación tiene como objetivo evaluar la respuesta insecticida e insectistática de extractos metanólicos de *Crataegus mexicana* y del ácido oleanólico, compuesto triterpénico, como potencial método de manejo botánico contra *S. frugiperda*.

3. ANTECEDENTES

3.1 Maíz

3.1.1 Generalidades del maíz

El maíz es una especie nativa de México, su nombre científico es *Zea mays* y pertenece a la familia Poaceae. Se caracteriza por ser una planta anual monoica; soporta variaciones de humedad, luz solar, altitud y temperatura, gracias a su adaptabilidad. Esta planta es originaria de México y se encuentra presente en todos los estados de la República Mexicana (Secretaría de Bienestar, 2022; Conacyt, 2022); se tiene registro de que su cultivo se inició hace 7 mil años volviéndose el principal alimento de Mesoamérica (SAGARPA, 2021).

3.1.2 Biología del maíz

El cultivo de maíz en una planta monocotiledónea puede alcanzar los 6 m de altura, posee un tallo fibroso con nudos y entrenudos, el cual está formado por meristemo apical, proflor, hojas e internudos, correspondientes al fitómero. Consta de una raíz la cual sirve como anclaje del sistema caulinar, además se encarga de la fijación de nutrientes. Es una planta frondosa debido a que posee hojas alargadas que miden de 2 a 10 cm de ancho. En el área superior de las hojas se encuentran las inflorescencias femeninas las cuales se conocen como mazorca, está conformada por una espiga circular con un eje central llamado raquis (olote), dentro de estas inflorescencias se encuentra el fruto cariósido formándose de 300 a 10000 granos por panoja. El fruto representa el 42 % del peso seco de la planta y se conforma por un embrión diploide, endosperma triploide, pericarpio y aleurona, mediante la estructura cónica llamada piloriza se unen los granos a la espiga. En la parte superior de la planta está compuesta de una espiga central que tiene algunas ramificaciones laterales llamadas inflorescencias masculinas donde se produce el polen. También el maíz posee inflorescencias unisexuales las cuales se forman a partir de inflorescencias con presencia de ambos sexos, sin embargo, dichas inflorescencias crecen alejadas de la planta (Sánchez-Ortega y Pérez-Urria, 2014; SAGARPA, 2017; SINAVIMO, 2020).

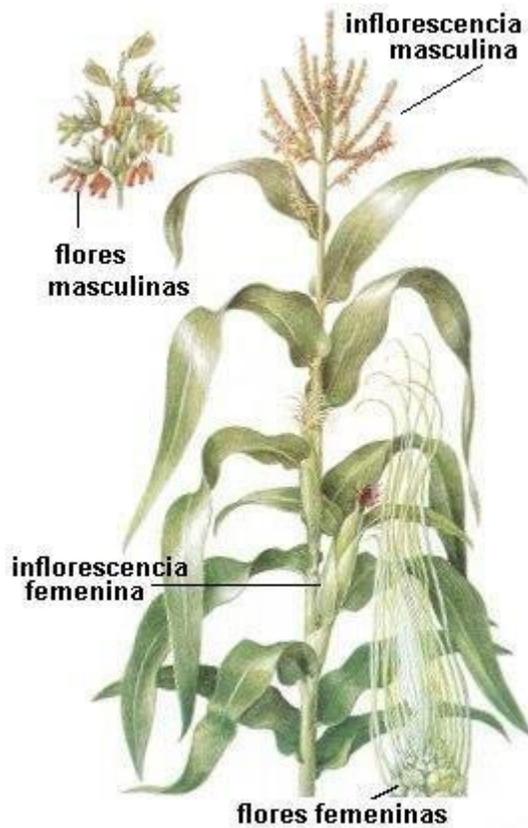


Figura 1. Biología del maíz (García-Alanís et al., 2019)

3.1.3 Importancia del maíz

La importancia del cultivo del maíz radica en el ámbito social, económico y cultural, aproximadamente 14 % del territorio nacional de México es usado con fines agrícolas, en donde, 7 millones de hectáreas se destinan solo para el maíz grano blanco (SAGARPA, 2021; Torres-Torres y Rojas-Martínez, 2018); México se posiciona en el quinto lugar a nivel mundial en la producción de este cultivo (Secretaría de Bienestar, 2022). Se tiene registro que el uso principal de este grano es para el consumo humano (Godina-Rodríguez et al., 2020) debido a que se emplea en diversos platillos de la gastronomía convirtiéndose en pieza importante en la dieta de los mexicanos, (Jaramillo-Albuja et al., 2018), en donde se consume 196.4 kg de maíz blanco anualmente por persona (SAGARPA, 2017).

3.1.4 Principales plagas que afectan el cultivo del maíz

El rendimiento del cultivo de maíz se ve afectado principalmente por insectos plaga que disminuyen la calidad del grano y dañan el desarrollo de la planta. Las condiciones ambientales y la siembra de monocultivo promueven la distribución, la incidencia y la intensidad de plagas. Además, cuando se realizan las aplicaciones químicas indiscriminadas, provocan que existan organismos resistentes y su reproducción se ve incrementada (Hernández-Trejo et al., 2020).

Existen alrededor de 80 especies de plagas del maíz, por ejemplo, la gallina ciega *Systellura longirostris* (Caprimulgiformes: Caprimulgidae), el gusano de alambre *Agriotes* spp. (Coleoptera: Elateridae) afectan principalmente a la raíz; las potenciales plagas que dañan el follaje son el gusano trozador *Agrotis Ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae), gusano elotero *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae), la mosca de los estigmas *Euxesta stigmatias* (Dípteros: Ulidiidae), el gusano soldado *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) y el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (Cuadro 1) (Hernández-Trejo et al., 2020; SADER, 2021; CESAPEG, s.f.). *S. frugiperda* destaca debido que afecta a la planta en toda su etapa fenológica provocando reducciones en el rendimiento del maíz de hasta el 100% (CNRF, 2021; Hernández-Trejo et al., 2019).

Cuadro 1. Principales plagas y etapa fenológica del maíz con mayor incidencia

Plaga	Etapas fenológicas	Estado biológico (daño)
Gusano cogollero (<i>S. frugiperda</i>)	Toda la etapa fenológica	Larva
Gusano trozador (<i>Agrotis ípsilon</i>)	Germinación, desarrollo vegetativo	Larva
Gusano elotero (<i>H. zea</i>)	Floración, maduración	Larva
Gusano soldado (<i>S. exigua</i>)	Germinación, desarrollo vegetativo	Larva

(Hernández-Trejo et al., 2019)

3.2 *Spodoptera frugiperda*

3.2.1 Generalidades de *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) comúnmente conocido como gusano cogollero del maíz (Figura 2) es un insecto polífago que se desarrolla en 350 especies de plantas principalmente en hojas, tallos y partes reproductivas (Kenis et al., 2022). La mayor cantidad de los hospederos se encuentran en la familia Poaceae con un 35.5 %, Fabaceae con 11.3 %, Solanaceae 4.3 %, Asteraceae 4.3%, Rosaceae y Chenopodiaceae con 3.7 % (CNRF, 2021). Debido a su rápido desarrollo, resistencia a insecticidas, alta fecundidad y su capacidad de migración, se considera una amenaza para los cultivos de estas familias (Jing, 2021).



Figura 2. Larva de *Spodoptera frugiperda* (Fuente propia)

2.2.2 Distribución

Este insecto es nativo de regiones tropicales y subtropicales de América, sin embargo, se ha reportado su presencia en el todo el continente (Montezano et al., 2018; Vatanparast y Park, 2022).

En 1967 se identificaron larvas de *S. frugiperda* en Israel, mientras que en Alemania (1999) se recolectaron plantas de maíz infectadas con el gusano cogollero. Para 2008, se informó la presencia de esta plaga en Hanoi, Vietnam. Por otro lado, en 2016 se reporta oficialmente en el occidente de África distribuyéndose en todo el continente africano y Medio Oriente en 2018. Para finales del 2018 *S. frugiperda* se

distribuyó desde Myanmar a la provincia de Yunnan, en el sur de China; su expansión a través del sur de Asia permitió su llegada en 2020 al continente australiano (Tay et al., 2023; Kenis et al., 2022).

2.2.3 Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*

El ciclo de vida del gusano cogollero puede durar de 30 a 90 d dependiendo de las condiciones ambientales, 30 d durante el verano, mayor a 60 d en primavera y otoño, y de 80 a 90 días durante el invierno. La duración en el estado de huevo es de 2 a 3 d, después de que eclosiona, dura entre 17 a 32 d como larva, comprendidos por 6 estadios (figura 3), en el último estadio llega a medir más de 20 mm; se sugiere comenzar con el manejo en los primeros 3 estadios antes de su longitud sea mayor a 10 mm. En el estado pre pupa dura aproximadamente 2 d posteriormente se entierra en el suelo durante 6 a 13 d, una vez que emerge como adulto inicia su periodo de reproducción, el cual dura entre 6 a 20 d (FAO, 2017; Pioneer, 2017; CNRF, 2021).



Figura 3. Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda* (Pionner, 2017).

2.2.4 Morfología de *Spodoptera frugiperda*

2.2.4.1 Huevo

Mide aproximadamente 4 mm de diámetro, el color de este depende de su madurez, en los primeros días es blanco y poco antes de su eclosión se torna de color negro. Se agrupan en cientos de ellos los cuales son cubiertos por escamas para protegerlos de los factores ambientales (Kenis et al., 2022).

2.2.4.2 Larva

La etapa larval que consta de 6 estadios en donde L1 (primer estadio) se caracteriza por una larva color blanco con una cápsula cefálica negra, con el paso de los días se van oscureciendo. Para los estadios L2- L3 miden entre 5 a 10 mm. En los tres últimos estadios (L4-L6) la larva es de color oscuro y en la cabeza presenta áreas frontales de color blanco-amarillo en forma de “Y” invertida. La larva en el octavo segmento abdominal en vista dorsal presenta cuatro puntos negros (CNRF, 2021).

2.2.4.3 Pupa

La pupa mide aproximadamente entre 14 a 18 mm de longitud y 4.5 mm de diámetro, poco antes de que emerja el adulto, la pupa se comienza a oscurecer. Se puede identificar al macho por sus elevaciones en el noveno esternito, mientras que las hembras presentan líneas curvadas en el en el octavo (de la Luz Sierra-Ruíz et al., 2022).

2.2.4.4 Adulto

En este caso las hembras son de mayor tamaño que los machos, este último presenta manchas en sus alas anteriores, mientras que las hembras son de color gris pardo (de la Luz Sierra-Ruíz et al., 2022; CNRF, 2021).

2.2.5 Afectaciones a los cultivos

Este insecto afecta al cogollo, principalmente cuando la planta tiene de 10 a 60 cm de altura; el daño se intensifica en zonas con poca precipitación (CNRF, 2021). Su mayor daño lo ocasiona en los primeros tres estadios, sin embargo, como es una plaga que se encuentra presente todo el año, destruye hojas, tallos y mazorcas (Deole y Pau, 2018; Hernández-Trejo et al., 2019). Además, las larvas pueden

actuar como vectores, por ende, transmitir fitopatógenos que pueden contaminar el grano con micotoxinas (Overton, 2021).

2.2.6 Métodos de manejo de *Spodoptera frugiperda*

2.2.7 Manejo Integrado de Plagas

La FAO propone el Manejo Integrado de Plagas (MIP) como una estrategia para reducir los impactos negativos a la salud y el medio ambiente que pueden ocasionar los plaguicidas, empleando técnicas culturales, biológicas, químicas y físicas. Se propone realizar un monitoreo constante del cultivo para proponer y aplicar diversas técnicas. Estas pueden ser desecación de malezas, rotación de cultivos, control químico en la dosis indicada y alternar los productos químicos. Como ventajas se tiene un control sostenible basándose en la reducción de plaguicidas, por ende, reducción de contaminación, conservación de los recursos naturales, reducción de los costos y aumento de la rentabilidad (Pionner, 2017; FAO, 2020).

2.3.1 Manejo mecánico

El manejo mecánico hace uso de barreras físicas para recolectar al insecto plaga, algunos ejemplos son las trampas cromáticas, trampas amarillas en semillero y trampas amarillas móviles (Jiménez, 2009).

2.3.2 Manejo físico

El método físico comprende diversas prácticas que van desde manipular la intensidad de luz y temperatura, eliminar la plaga manualmente y colocar barreras como, por ejemplo, mallas plásticas que impidan el paso de polillas (Hernández-Trejo, 2019).

2.3.3 Manejo químico

En México se destinan alrededor de 2600 t de insecticida químicos sintéticos para el manejo de *S. frugiperda* (Hernández-Trejo, 2019). Gracias a su efectividad, amplio espectro y bajo costo, los insecticidas químicos sintéticos como: piretroides, organofosforados, azadiractina, carbamatos, avermectinas y diamidas son comúnmente usados contra *S. frugiperda* (CNRF, 2021); sin embargo, traen

diversos efectos si no se usan adecuadamente, por ejemplo, contaminación en cuerpos de agua, suelo y aire, afectaciones en el sistema endocrino, tumores, cáncer e incluso la muerte (Hassaan y El Nemr, 2020).

Por otro lado, se suma su resistencia a insecticidas debido al mal manejo, piretroides, carbamatos y organofosforados son algunos insecticidas químicos sintéticos de los que se ha reportado resistencia por parte de esta plaga (Tay et al., 2023; Paredes-Sánchez et al., 2021).

2.3.4 Manejo biológico

Dentro del manejo biológico se emplean organismos entomopatógenos, hongos, nematodos, virus y bacterias contra insectos plaga, como alternativa de menor impacto hacia el ambiente (Paredes-Sánchez et al., 2021). Existe una gran variedad de organismos que se han empleado para el manejo viable de gusano cogollero del maíz, se tiene registro que tiene más de 100 especies de parasitoides y en México se han registrado más de 88 (Paredes-Sánchez et al., 2021). Algunos ejemplos son: *Bacillus thuringiensis* (Hernández-Trejo, 2019), *Chelonus insularis*, *Pristomerus spinator*, *Cotesia marginiventris*, *Meteorus* sp., *Ophion flavidus*; *Eucelatoria armigera* y *Lespezia* sp., son algunos de ellos (CNRF, 2021). *Metarrizium anisopliae* produjo 100 % de mortalidad en larvas de *S. frugiperda* en 5 d de tratamiento ex vitro, por otro lado, *Heterorhabditis bacteriophora* mostro 80 % de mortalidad larval (Guo, 2020).

2.3.5 Manejo botánico

Como manejo botánico se entiende al uso de extractos vegetales o aceites esenciales para combatir una plaga; con el fin de reducir el costo de la producción del cultivo, generar menor daño al ambiente además de reducir la dependencia de insecticidas químicos sintéticos (Figueroa-Gualteros, 2019). Los metabolitos secundarios sintetizados por las plantas han demostrado tener propiedades bactericidas, insecticidas, fungicidas, antioxidantes, anticancerígenas, cardiovasculares, etcétera; los principales compuestos que presentan actividad insecticida son fenoles, alcaloides y terpenos (Santos-Alves, 2018). Se han

reportado diversos extractos vegetales con potencial método de control botánico contra *S. frugiperda*, algunas familias dentro de la lista son: Asteraceae, Celastraceae, Euphorbiaceae, Poaceae, Rubiaceae, Lamiaceae, Meliaceae, Apiaceae y Cactaceae (Figueroa-Gualteros, 2019). Por ejemplo, se reportó que *Vernonia holosenicea* (Asterácea) tiene 87 % de mortalidad contra *S. frugiperda*; *Siphoneugena densiflora* (Myrtaceae) presentó 100 % de mortalidad larval (Rioba, 2020).

2.3 Rosáceas con actividad contra artrópodos

Extractos de plantas de la familia Rosaceae han demostrado tener actividad biológica contra artrópodos, por ejemplo los extractos de hojas, flores y semillas de *Prunus laurocerasus* tienen efectos tóxicos y repelentes de contra huevos de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) (Akyazi et al., 2015); el extracto de éter de petróleo de semillas de *Prunus cerasus* tiene actividad insecticida contra adultos *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), reportándose mortalidades de 53,33 y 100 % a las 24 y 48 h de exposición con una concentración de 0.25% (Sleem, 2020); por otro lado, extractos de metanólicos, clorofórmicos y con de éter de petróleo de hojas de *Prunus domestica* mostraron actividad larvicida contra *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae), se reportaron CL₅₀ de 33.3, 70.8 y 132.7 ppm de los extractos de éter de petróleo, cloroformo y metanol respectivamente (Shehata, 2019); el extracto de *Rubus steudneri* mostró actividad insecticida contra larvas de segundo y tercer estadio en los géneros *Aedes* (Diptera: Culicidae) y *Culex* (Diptera: Culicidae) con 100 % de mortalidad a una concentración de 1 mgml⁻¹; mientras que *Rubus apetalus* mostró el 100 % de mortalidad de larvas de segundo estadio en especies de *Aedes* con la concentración de 5 mg/mL (Raghavendra et al., 2021).

2.4 *Crataegus mexicana*

2.5.1 Generalidades y aplicaciones de *Crataegus mexicana*

El género *Crataegus* es comunmente conocido como tejocote, pertenece a la familia Rosaceae; está constituido por 140 especies distribuidas por todo el mundo de las cuales 13 se encuentran en México, siendo las más comunes *Crataegus mexicana* y *Crataegus gracilior*. Este fruto se ha empleado en México desde la época prehispánica para uso medicinal debido a sus propiedades; extractos de *Crataegus* spp han demostrado tener efectos antiarrítmicos, vaso relajantes, antiinflamatorios, anti bactericidas y antifúngicos (Franco-Mora et al., 2010; Ornelas-Lim et al., 2021).



Figura 4. *Crataegus mexicana* “tejocote” (Naturalista, 2016)

2.5.2 Taxonomía

- Plantas (Reino Plantae)
- Plantas Vasculares (Filo Tracheophyta)
- Plantas con Flores (Subfilo Angiospermae)
- Magnolias, Margaritas Y Parientes (Dicotiledóneas) (clase Magnoliopsida)
- Rosas, Olmos, Moreras, Ortigas Y Afines (Orden Rosales)
- Rosas, Manzanas, Fresas Y Parientes (Familia Rosaceae)

- Manzanas, Duraznos Y Parientes (Subfamilia Amygdaloideae)
- Manzanos, Perales, Espinos Y Parientes (Tribu Maleae)
- Espinos Y Tejocotes (Género *Crataegus*)
- Tejocote (*Crataegus mexicana*)

(Naturalista, 2016)

2.5.3 Distribución

Crataegus mexicana se encuentran distribuidas principalmente por los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Chiapas, Michoacán, Hidalgo, Veracruz, San Luis Potosí, Jalisco y Morelos. Su ubicación se basa en clima templado frío especialmente en bosque de coníferas, mesófilo, de pino-encino y tropical subcaducifolio (CONAFOR s.f.).

2.5.4 Metabolitos secundarios presentes en *Crataegus mexicana*

Se ha identificado que los principales compuestos bioactivos presentes en extractos etanólicos, metanólicos y acetónicos de hojas, tallos y fruto del género *Crataegus* son: flavonoides, polifenoles y terpenos, los cuales tienen propiedades antiinflamatorias, vasorelajantes, hipolipidémicas y antimicrobianas. Además, se ha identificado la presencia de ácido clorogénico, catequina, quercetina y kaempferol en extractos etanólicos *C. stipulosa* y *C. mexicana*; el ácido ursólico se ha identificado en extractos metanólicos obtenidos de las hojas y flores de *C. gracilior* (Banderas-Tarabay et al., 2015; Robles-Botero, 2020; Ornelas-Lim et al., 2021).

2.5.5 Ácido oleanólico

El ácido oleanólico es un triterpenoide pentacíclico (Figura 5) considerado como un metabolito secundario de origen vegetal que puede encontrarse en estado libre o en forma de glucósido (Castellano et al., 2022). Este triterpeno es un compuesto prácticamente insoluble en agua que suele extraerse de las plantas mediante disolventes como metanol, etanol, 1-butanol, acetato de etilo, éter dietílico o acetona. (Castellano et al., 2022).

Se ha reportado actividad antibacteriano, antifúngico, anticancerígeno, antidiabético, antiinflamatorio, hepatoprotector, gastroprotector, hipolipidémico y

antiaterosclerótico por parte de este metabolito secundario (Dini et al., 2009; Dzubak et al., 2006; Liu et al., 2005).

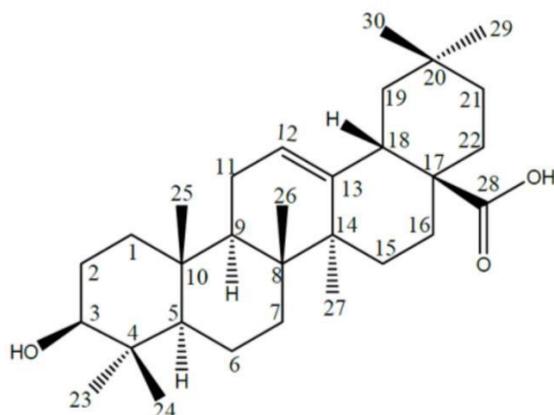


Figura 5. Ácido oleanólico (Castellano et al., 2022).

2.5.6 Terpenos con actividad insecticida e insectistática

Algunos monoterpenos presentan actividad insecticida contra diferentes artrópodos, por ejemplo, el limoneno mostro una mortalidad del 97 % en larvas de primer estadio de *Helicoverpa armígera* (Lepidoptera: Noctuidae); el acetato de geranilo con una $DL_{50} = 7,21 \mu mL^{-1}$ contra adultos de *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae), el mertenseno y violaceno mostraron 100 y 80 % de mortalidad larval contra *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), la actividad insecticida (90 % de mortalidad) sobre *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) por parte de extractos cloruro de metileno de *Lavandula spica* (Lamiaceae) es debido a la presencia de 1,8-cineol (Miyazawa et al., 2000; Clemente et al., 2007; Durán-Aguirre et al., 2020; Plata-Rueda, 2020).

Sesquiterpenos como lactona de dehidrocostus y costunolida mostraron actividad insecticida contra larvas de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) con una CL_{50} de 2.34 y 3.26 $\mu g mL^{-1}$ respectivamente, por otro lado, el confertifolin presentó actividad insecticida ($CL_{50} = 3.09 \mu g/ml$) contra *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae); la actividad insecticida (100 % mortalidad larval) del extracto metanólico de *Alpinia oxyphylla* (Zingiberales: Zingiberaceae) contra *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) (Miyazawa et al., 2000; Andrade-Ochoa et al, 2017).

Dentro de los triterpenos con actividad contra plagas se encuentran el ácido betulínico y el ácido ursólico, los cuales presentan actividad larvicida contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) obteniendo CL_{50} de 142 y 112 ppm respectivamente después de 48 h de exposición. (Da Silva et al., 2016).

3 HIPOTESIS

- El extracto metanólico de las partes aéreas de hojas y de tallos de *Crataegus mexicana* presenta compuestos triterpénicos como el ácido oleanólico, los cuales han mostrado actividad insecticida y/o insectistática contra insectos plaga, por lo que este extracto presentará actividad insecticida o insectistática contra *Spodoptera frugiperda*.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar la actividad insecticida e insectistática del extracto metanólico de hojas y de tallos de *Crataegus mexicana* y del ácido oleanólico contra *Spodoptera frugiperda*

4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad insecticida e insectistática del extracto metanólico de hojas y de tallos de *Crataegus mexicana* contra larvas de *Spodoptera frugiperda*.
- Identificar y cuantificar el contenido de ácido oleanólico en el extracto metanólico de hojas y de tallos de *Crataegus mexicana*.
- Evaluar la actividad insecticida e insectistática del ácido oleanólico contra *Spodoptera frugiperda*.

5. METODOLOGÍA

5.1 Sitio de estudio

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas (LCNI-UAQ), ubicado en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

5.2 Cría de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio

Se emplearon organismos de *S. frugiperda* proporcionados por el Laboratorio CNI-UAQ. Los insectos fueron criados a condiciones controladas de temperatura (27 ± 2 °C) y humedad (70 ± 5 %) y fotoperiodo luz- oscuridad de 14-10 h en una cámara bioclimática; Las larvas se colocaron individualmente en vasos de polietileno del número 0 marca PRIMO (Ecatepec, Edo. México) (ver Figura 6) junto con un trozo de 1 cm³ de dieta artificial basada en el trabajo de Ramos-López et al. (2010), su contenido se ve mostrado en el cuadro 2.



Figura 6. Larvas de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio

Al llegar a la fase pupal, grupos de 50 organismos de *S. frugiperda* fueron depositados en recipientes plásticos de 1 L y se mantuvieron a las mismas condiciones. Después de la emergencia de los adultos estos se colocaron en bolsas de papel encerado con una relación de hembras:machos 2:1 para permitir la cópula y oviposición de masillas de huevos en las paredes de la bolsa; durante esta fase se les colocó una solución con sacarosa al 10% para su alimentación y cambiando la bolsa cada tercer día.

Cuadro 2. Ingredientes para la preparación de 1 kg de dieta artificial (Ramos-López et al., 2010)

Sustancia	Cantidad
Maíz molido	120.0 g
Frijol molido	60.0 g
Levadura liofilizada	20.0 g
Neomicina	0.6 g
Multivitamínico	2.5 g
Ácido ascórbico	1.7 g
Metil 4-hidroxibenzoato	1.7 g
Agar bacteriológico	10.0 g
Formaldehído al 10 %	2.5 mL
Agua	800.0 mL
*Etanol	17.0 mL

*Se utilizó para disolver el ácido ascórbico

5.3 Obtención del extracto metanólico de *Crataegus mexicana*

5.3.1 Colecta de material vegetal

Las muestras de material vegetal de *C. mexicana* se colectaron en Huasca de Ocampo, Hidalgo (Latitud: 20°14'11.1156" N/+; Longitud: 98°33'43.5456" W/-) y en Comonfort, Guanajuato (Latitud: 20°42'38.5596" N/+; Longitud: 100°45'13.8996" W/-). Ambas muestras se trasladaron al LCNI-UAQ, posteriormente se separaron tallos y hojas de ambos sitios, dichas muestras se secaron a 47 °C durante 72h en un Horno Arsa Modelo AR-290 D (Figura 7). Una vez seco, se realizó una molienda hasta obtener casi un polvo molienda con un molino IKA-WERKE M20.



Figura 7. Secado del material vegetal de *Crataegus mexicana*

5.3.2 Obtención de extractos de hojas y tallos de *Crataegus mexicana*

Para la realización de los extractos se emplearon 80 g de material vegetal de cada muestra (extracto de tallos de Huasca Ts1, extracto de tallos de Comonfort Ts2, extracto de hojas de Huasca Hs1, extracto de hojas de Comonfort Hs2), posteriormente este se colocó en un matraz bola de 1000 ml con 400 ml de metanol grado reactivo J.T. Baker, posteriormente se sometió a una extracción a reflujo durante 8 h (Figura 3); luego el solvente filtró al vacío en un embudo buchner para después ser evaporado hasta sequedad en un evaporador rotatorio IKA RV10 (Figura 4). Después de la realizar la metodología descrita anteriormente se calculó el rendimiento de estos mediante la siguiente formula:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{\text{peso final del extracto}}{\text{peso material vegetal antes de la extracción}} * 100$$



Figura 8. Extracción a reflujo con metanol

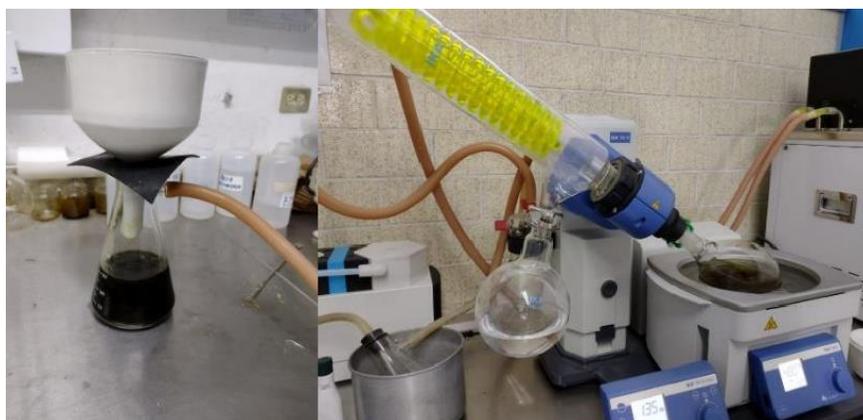


Figura 9. Eliminación del solvente en los extractos de *Carataeugs mexicana*

5.4 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática del extracto metanólico de hojas y tallos *Crataegus mexicana* contra *Spodoptera frugiperda*

Para la realización del ensayo se realizó un bioensayo preliminar evaluando concentraciones logarítmicas de cada uno de los extractos (5000 a 0.5 ppm) más un control negativo, con la finalidad de observar el máximo y el mínimo de respuesta biológica. Los tratamientos fueron preparados adicionando cada una de las concentraciones de extracto de tallos y de hojas de *C. mexicana* a la dieta artificial, como control negativo se tomó a la dieta artificial sin extracto.

De acuerdo a los resultados obtenidos se determinaron las concentraciones del ensayo final (0, 1,000, 3,000, 4,500, 7,000 y 10,000 ppm) más un control positivo (PHCNEEM), en todos los ensayos se empleó un diseño experimental completamente al azar de acuerdo a la metodología propuesta por Ramos-López et al. (2010); se colocó un trozo de dieta (1cm³) en vasos de plástico (polietileno) del número 0 marca PRIMO (Ecatepec Edo. Mex.), los tratamientos se distribuyeron en una cámara bioclimática a 27 ± 2 °C, 70 ± 5 % humedad relativa, y un fotoperiodo de 14-10 h. El experimento se revisó cada tercer día hasta que las larvas alcanzaron el sexto estadio, a partir de ese momento se revisaron diariamente. Las variables

que se evaluaron fueron mortalidad larval y pupal (%), duración larval y pupal(d), así como el peso de la pupa a las 24 h de su formación (mg) y la concentración letal media (CL50) en ppm.

5.5 Identificación de ácido oleanólico en el extracto metanólico de *Crataegus mexicana* que presente mayor actividad biológica contra *Spodoptera frugiperda*

La identificación y cuantificación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) utilizando un equipo de la marca Waters modelo Alliance (Milford, MA, USA), compuesto por una bomba cuaternaria modelo e2695 y un detector de arreglo de diodos (DAD) modelo 2998. La adquisición de los datos y el procesamiento de estos se realizaron utilizando el software Empower3. Además, se empleó una columna C18 (5 μ m, 4.5 x150 mm) y como fase móvil se usó metanol: agua (acidulada con ácido acético 0.5 %) en proporción 90: 10. Los análisis se realizaron en modo de elusión isocrático, el flujo de la fase móvil será de 0.4 mLmin⁻¹ y la longitud de onda de detección fue a 204 nm, se utilizó un volumen de inyección de 10 μ L y un tiempo de análisis de 20 min.

5.6 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática del ácido oleanólico contra *Spodoptera frugiperda*

Para la evaluación del ácido oleanólico se siguió el mismo procedimiento descrito en punto 5.4 realizando el ensayo preliminar con concentraciones logarítmicas más un control negativo, para el ensayo final se emplearon las concentraciones siguientes 100, 300, 500, 700 y 1000 ppm incluyendo un control negativo. En análisis de resultados se evaluó de acuerdo con la metodología escrita en el punto 5.7

5.7 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos de los bioensayos de los extractos y del compuesto se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Posteriormente se realizó la prueba de Tukey con un nivel de confianza de 95 %, para identificar que concentraciones fueron estadísticamente diferentes entre sí, finalmente se determinaron las concentraciones letales media CL_{50} mediante un análisis PROBIT usando el software Minitab 19.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de los extractos se muestra en el Cuadro 3 en donde el Hs2 tuvo mayor rendimiento después de la extracción, seguido de los extractos Ts2, Ts1, y Hs1 sus rendimientos son 62.4, 58.8 y 45.7 % menor en comparación con el extracto Hs2.

Cuadro 3 Rendimiento de los extractos de *Crataegus mexicana*

Huasca		Comonfort	
Tallos (Ts1)	Hojas (Hs1)	Tallos (Ts2)	Hojas (Hs2)
11.6 %	15.3 %	10.6 %	28.2 %

Palomo et al., (2009) reportaron rendimientos de 14.5 % y 11.2 % en los extractos acuoso y metanólico respectivamente de *Prunus domestica* (Rosaceae), el rendimiento del extracto metanólico es menor a los rendimientos obtenidos en los extractos Ts1, Hs1 y Hs2 de este estudio. Por otro lado, Cervantes-Cardoza et al. (2010) reportaron rendimientos 1.54, 2.21 y 2.55 % en los extractos acuosos de semillas de *Malus domestica* (Rosaceae) en tres de sus variedades, Winter Banana, Winter Permain y Blanca de Asturias, respectivamente; en comparación con el presente trabajo, los rendimientos de *C. mexicana* son mayores a los de *M. domestica*.

6.1 Actividad insecticida e insectistática de los extractos metanólicos de *Crataegus mexicana* contra *Spodoptera frugiperda*

Los ensayos preliminares de los extractos de tallos y de hojas de *Crataegus mexicana* contra *Spodoptera frugiperda* mostraron que el peso larval a los 10 y 20 d (Cuadro 4) en los diferentes tratamientos no son significativamente diferentes respecto al control negativo. Sin embargo, en el cuadro 5 se puede apreciar que el peso larval a los 20 d en el extracto Hs1 hay una diferencia significativa en el

tratamiento de 5000 ppm, por otro lado, en el extracto Hs2 hay una diferencia significativa en los tratamientos 500 y 5000 ppm por lo que se prosiguió a realizar los bioensayos finales con concentraciones por encima de los 500 ppm.

A partir de los resultados obtenidos en las pruebas preliminares se decidió evaluar las concentraciones de 10,000, 7,000, 4500, 3000, 1000, 0 y un control positivo correspondiente a un insecticida botánico comercial. En el cuadro 6 se puede apreciar la actividad insecticida del extracto Ts1 sobre larvas de *S. frugiperda* en donde observamos que la mortalidad larval fue diferente significativamente respecto al control negativo en la concentración de 7000 y 10000 ppm registrando valores de 70 % y 80 % respectivamente (Figura A), de igual manera se muestra una mortalidad larval similar al control positivo (60 %). Respecto a la mortalidad acumulada los tratamientos ya mencionados se comportaron de manera similar al control positivo perteneciente al PHCNEEM. La CL₅₀ larval fue 5788.92 ppm y la CL₅₀ acumulada fue 4839.12 ppm.

Cuadro 4 Peso de larvas de *Spodoptera frugiperda* tratadas con extractos metanólicos de tallos de *Crataegus mexicana*

Tratamiento (ppm)	Huasca (Ts1)		Comonfort (Ts2)	
	10 d (mg)	20 d (mg)	10 d (mg)	20 d (mg)
5000	1.0 ± 0.3 B	52.8 ± 34.4 B	1.0 ± 0.3 B	12.0 ± 4.5 B
500	4.0 ± 1.2 B	62.2 ± 28.3 B	4.0 ± 1.2 B	56.2 ± 49.6 AB
50	16.0 ± 9.3 A	124.6 ± 14.5 AB	16.0 ± 9.3 A	237.0 ± 155.7 A
5	16.2 ± 4.3 A	145.8 ± 51.7 AB	16.2 ± 4.3 A	227.0 ± 158.6 AB
0.5	18.2 ± 6.7 A	237.6 ± 159.5 A	18.0 ± 6.7 A	218.8 ± 157.1 AB
0	8.2 ± 3.3 AB	50.6 ± 37.6 B	8.2 ± 3.3 AB	50.6 ± 37.6 AB

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 5 Peso de larvas de *Spodoptera frugiperda* tratadas con extracto metanólico de hojas de *Crataegus mexicana*

Tratamiento (ppm)	Huasca (Hs1)		Comonfort (Hs2)	
	10 d (mg)	20 d (mg)	10 d (mg)	20 d (mg)
5000	0.9 ± 0.2 C	18.6 ± 10.1 A	1.0 ± 0.2 C	4.2 ± 3.1 A
500	0.9 ± 0.2 C	56.2 ± 49.6 AB	1.0 ± 0.2 C	12.2 ± 10.6 A
50	16.0 ± 9.3 AB	137.0 ± 14.5 ABC	16.0 ± 5.7 BC	37.4 ± 22.7 B
5	19.8 ± 4.9 A	159.8 ± 89.7 BC	36.8 ± 17.5 A	202.4 ± 96.8 B
0.5	21.6 ± 3.2 A	231.8 ± 101.2 BC	22.4 ± 10.9 AB	225.9 ± 4.6 B
0	8.2 ± 3.2 BC	50.6 ± 37.6 C	8.2 ± 3.3 BC	50.6 ± 37.6 B

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.



Figura 10. Larvas muertas con los tratamientos 7000 y 10000 ppm del extracto Ts1

Cuadro 6. Actividad insecticida del extracto metanólico de tallos de Huasca (Ts1)

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
10000	80.0±41.04 A	5.0 ± 22.3 A	85.0±36.6 A
7000	70.0±47.0 AB	5.0±22.3 A	75.0±44.43 AB
4500	35.0±48.9 BCD	10.0±30.7 A	45.0 ±51.0 BC
3000	30.0±47.0 CD	15.0±36.6 A	45.0 ±51.0 BC
1000	5.0±22.3 D	5.0±22.3 A	10.0±30.7 C
0	15.0±36.1 D	2.5±15.8 A	17.5±38.4 C
++	60.0±50.3 ABC	20.0±41.0 A	80.0±41.0 AB
	P<0.0	P=0.272	P<0.0
	5786.92 ppm (4728.21-7118.21 ppm)		4839.12 ppm (3790.27-6023.93 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 7 Actividad insecticida del extracto metanólico de tallos de Comonfort (Ts2)

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
10000	35.0±48.9 AB	0.0±0.0 B	35.0±48.9 B
7000	20.0±41.0 AB	0.0±0.0 B	20.0±41.0 B
4000	50.0±51.3 AB	0.0±0.0 B	50.0±51.3 AB
3000	30.0±47.0 AB	0.0±0.0 B	30.0±47.0 B
1000	10.0±30.7 B	0.0±0.0 B	10.0±30.7 B
0	15.0±36.1 B	2.5±15.8 B	17.5±38.4 B
++	60.0±50.3 A	20.0±41.0 A	80.0±41.0 A
	P=0.001	P=0.001	P<0.000
CL ₅₀	13810.4 ppm (ND)		4634.26 ppm (ND)

Cada valor es la media de 20 repeticiones \pm error estándar de la media. $P < 0.05$ indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 8. Actividad insecticida del extracto metanólico de hojas de Huasca (Hs1)

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
10000	45.0 \pm 51.0 AB	20.0 \pm 41.0 A	65.0 \pm 48.9 AB
7000	40.0 \pm 50.3 AB	10.0 \pm 30.7 A	50.0 \pm 51.3 AB
4500	50.0 \pm 51.3 AB	10.0 \pm 30.7 A	60.0 \pm 50.3 AB
3000	50.0 \pm 51.3 AB	5.0 \pm 22.5 A	55.0 \pm 51.0 AB
1000	50.0 \pm 51.3 AB	0.0 \pm 0.0 A	50.0 \pm 51.3 AB
0	15.0 \pm 36.1 B	2.5 \pm 15.8 A	17.5 \pm 38.4 B
++	60.0 \pm 50.3 A	20.0 \pm 41.0 A	80.0 \pm 41.0 A
	P=0.001	P=0.090	P<0.000
CL ₅₀	9859.15 ppm (ND)		4726.94 ppm (1539.76-8942.14 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones \pm error estándar de la media. $P < 0.05$ indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Para el extracto de hojas de Huasca (Hs1) (Cuadro 8) no hay una diferencia significativa entre los distintos tratamientos y el control negativo, esto para mortalidad larval, pupal y acumulada, por lo que en este caso no hay una respuesta insecticida contra dicha plaga. La CL₅₀ larval es 9859.15 ppm y la CL₅₀ acumulada es 4726.94 ppm.

El bioensayo con el extracto metanólico de hojas de Comonfort (Hs2) (Cuadro 9) arrojó que los tratamientos de 7000 y 10000 ppm mostraron una respuesta significativamente diferente al control negativo en el caso de la mortalidad larval, obteniendo valores de 60 % y 70 % respectivamente (Figura 11), estos tratamientos se comportan de manera similar al control positivo. En el caso de la mortalidad acumulada se obtuvieron respuestas significativas a 7000, 10000 ppm con valores de mortalidad de 70 % para ambos tratamientos, de igual manera los extractos a estas concentraciones se comportan de manera similar al PHCNEEM. La CL₅₀

larval y acumulada son 6362.71 y 5395.78 ppm respectivamente.



Figura 11. Larva muerta con el tratamiento de 10000 ppm del extracto Hs2

Cuadro 9. Actividad insecticida del extracto metanólico de hojas de Comonfort (Hs2)

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
10000	70.0±47.0 A	0.0±0.0 A	70.0±47.0 A
7000	60.0±50.3 AB	10.0±30.7 A	70.0±47.0 A
4500	35.0±48.9 ABC	5.0±22.3 A	40.0±50.3 AB
3000	30.0±47.0 ABC	15.0±36.6 A	45.0±51.0 AB
1000	20.0±41.0 BC	5.0±22.3 A	25.0±44.4 B
0	15.0±36.1 C	2.50±15.8 A	17.5±38.4 B
++	60.0±50.3 AB	20.0±41.0 A	80.0±41.0 A
	P<0.000	P=0.137	P<0.000
CL ₅₀	6362.71 ppm (4946.09-8538.90 ppm)		5395.78 ppm (3933.91-7318.66 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Para evaluar la actividad insectistática de los extractos sobre *S. frugiperda* el peso larval fue monitoreado a los 10 y 20 d; en el cuadro 10 podemos apreciar los resultados del peso correspondientes al extracto Ts1 en donde los tratamientos 7000 y 10000 ppm a los 10 d son similares entre sí y diferentes significativamente respecto al control (Figura 12); debido a que el peso disminuyó un 85.49 % para el tratamiento de 7000 ppm y un 87.46 % en la concentración de 10000 ppm, los

valores de peso larval fueron de 9.05 y 7.83 mg respectivamente. Esta tendencia se mantiene en el peso larval a los 20 d observando una disminución del 68.58 % para el tratamiento de 7000 ppm con un valor de 85.7 mg; mientras que para el tratamiento de 10000 ppm disminuyó el peso en un 79.02 % respecto al control negativo con un valor de 57.21 mg, la disminución de peso se debe a que las larvas no ingerir el alimento (tratamiento), por lo que este extracto presenta actividad antialimentaria.



Figura 12. Larvas de los tratamientos de 7000 y 10000 ppm del extracto Ts1

En el cuadro 10 podemos apreciar la duración larval la cual es estadísticamente diferente al control en todas las concentraciones evaluadas, obteniendo valores de 28.2, 31.0, 27.4, 35.5 y 37.5 d para 1000, 3000, 4500, 7000 y 10000 ppm respectivamente, en donde la respuesta correspondiente a los tratamientos 1000, 3000 y 4500 ppm se comportan estadísticamente similares al control positivo (PHCNEEM). De igual manera la duración larval aumentó en las concentraciones de 7000 y 10000, obteniendo los valores de 19.0 y 17.6 d respectivamente; para la duración acumulada se observó un aumento con respecto al control negativo en todos los tratamientos evaluados, en donde tratamientos por debajo de los 4500 ppm se comportan similares al control positivo. Los valores de duración acumulada son 54.6 d para 10000 ppm, 53.5 d para 7000 ppm, 42.1 d para 4500 ppm, 41.1 d para 3000 ppm y 37.8 d para 1000 ppm, dichos valores representan un aumento de que va desde 17.39 % hasta 69.56 % con respecto al control negativo. Por otro lado, el peso pupal también se vio afectado, ya que en todas las concentraciones evaluadas el peso disminuyó desde un 30 % hasta un 51.32 % con respecto al

control negativo.

Podemos apreciar actividad insectistática por parte del extracto Ts2 (Cuadro 11), comenzando por el peso larval a los 10 d (cuadro 11), se presenta una disminución del peso en concentraciones por encima de 3000 ppm, esta disminución va desde 19.24 % hasta 54.84 %. Sin embargo, a los 20 d solamente el peso disminuyó en las concentraciones de 7000 y 10000 ppm, obteniendo los valores de 120.30 y 140.90 d respectivamente, de igual manera este extracto presenta actividad antialimentaria. En el cuadro 11 se observa actividad insectistática en las concentraciones de 10000, 3000 y 1000 ppm con los valores 25.0, 25.6 y 24.9 d respectivamente; mientras que el peso pupal disminuye desde un 24.41 % hasta un 40.29 %.

Como parte de la actividad insectistática del extracto podemos observar que en el cuadro 12 el peso larval a los 10 y 20 d es estadísticamente diferente respecto al control negativo en donde este disminuyó hasta en un 85.56 % para los 10d y hasta un 68.71 % para los 20 d. Por otro lado, en el cuadro 12 el peso pupal disminuye de un 18.66 % hasta un 26.26 % en comparación con el control negativo.

La actividad insectistática del extracto Hs2 se puede observar en el cuadro 13 en donde el peso larval a los 10 d disminuyó un 52.63 % hasta un 74.03 %. A los 20 d los tratamientos 3000, 7000 y 10000 mostraron una diferencia respecto al control negativo obteniendo los valores de 140.9, 162.6 y 113.3 mg respectivamente; esto representa una disminución de hasta el 63.40 %. Dicha actividad también se muestra en la duración larval y acumulada ya que en todos los tratamientos hay diferencia significativa respecto al control negativo y similares al control positivo; el peso pupal disminuyó hasta un 43.54 % respecto al control negativo (Cuadro13).

Cuadro 10. Actividad insectistática del extracto metanólico de tallos de *Crataegus mexicana* de Huasca (Ts1)

Tratamiento (ppm)	Peso 10 d (mg)	Peso 20 d (mg)	Duración larval (d)	Duración pupal (d)	Duración acumulada (d)	Peso pupal (mg)
10000	7.83±7.8 E	57.2±85.8 C	37.5.0±3.0 A	17.6±7.5 A	54.6±3.21 A	113.75±8.8 C
7000	9.0±9.6 E	85.7±61.4 C	35.5.0±2.0 A	19.0±0.0 A	53.5±1.7 A	152.7±25.6 BC
4500	78.2±56.2 B	222.1±89.4 AB	27.4±1.8 C	14.4±2.0 B	42.1±3.6 B	156.3±42.8 BC
3000	45.4±31.7 CD	181.4±131.9 B	31.0±0.7 B	10.1±2.5 C	41.1±3.1 BC	170.9±18.3 B
1000	118.7±38.9 A	243.2±85.4 AB	28.2±0.9 C	9.4±0.7 C	37.8±1.0 C	162.7±32.6 B
0	62.4±38.5 BC	272.8±105.3 A	22.0±3.3 D	10.0±1.0 C	32.2±3.7 D	233.7±16.9 A
++	24.47±21.7 DE	228.2±85.8 AB	29.5±1.7 BC	9.7±0.9 C	39.2±0.9 BC	166.3±36.8 B
	P<0.000	P<0.000	P<0.000	P<0.000	P<0.000	P<0.000

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 11 Actividad insectistática del extracto metanólico de tallos de *Crataegus mexicana* de Comonfort (Ts2)

Tratamiento (ppm)	Peso 10 d (mg)	Peso 20 d (mg)	Duración larval (d)	Duración pupal (d)	Duración acumulada (d)	Peso pupal (mg)
10000	56.5±10.6 C	140.9±80.0 C	25.0±1.5 B	8.7±0.4 A	33.8±1.4 AB	145.7±22.9 C
7000	61.0±6.4 C	120.3±66.0 C	23.9±1.4 BC	8.8±0.4 A	32.8±1.6 ABC	139.2±26.2 C
4500	101.1±3.8 B	252.1±123.3 AB	23.6±1.2 BC	9.0±0.4 A	32.6±1.2 ABC	176.2±23.7 B
3000	97.9±8.1 B	223.2±50.7 B	25.6±1.2 B	8.7±1.3 A	34.4±1.7 AB	162.8±26.1 BC
1000	108.2±16.8 AB	306.1±63.7 AB	24.9±1.5 B	9.6±1.1 A	34.6±1.7 A	172.6±18.0 B
0	125.2±53.0 A	311.1±101.5 A	22.0±3.3 C	9.7±2.0 A	31.8±4.2 BC	233.1±17.0 A
++	24.4±21.7 BC	228.2±85.8 AB	29.5±1.7 A	9.7±0.9 A	28.2±0.5 C	166.3±36.8 BC
	P<0.000	P<0.000	P<0.000	P=0.075	P<0.000	P<0.000

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 12 Actividad insectistática del extracto metanólico de hojas de *Crataegus mexicana* de Huasca (Hs1)

Tratamiento (ppm)	Peso 10 d (mg)	Peso 20 d (mg)	Duración larval (d)	Duración pupal (d)	Duración acumulada (d)	Peso pupal (mg)
10000	46.1±6.9 BC	227.3±23.7 B	27.9±1.4 AB	8.5±0.5 A	37.0±1.1 A	179.7±25.9 B
7000	71.3±13.7 BC	257.0±29.5 B	26.5±1.8 AB	8.7±0.4 A	35.0±2.3 AB	176.7±20.1 B
4500	37.9±7.3 B	290.8±25.8 B	24.7±0.9 B	8.8±0.3 A	33.7±1.1 ABC	189.6±35.5 B
3000	32.8±5.7 C	245.3±16.7 B	25.8±1.6 B	8.8±0.3 A	34.7±1.4 AB	187.1±17.2 B
1000	78.2±8.0 B	254.3±15.3 B	26.3±1.0 AB	8.6±0.5 A	34.9±1.1 AB	171.9±25.7 B
0	132.0±14.0 A	421.9±13.2 A	22.0±3.3 C	9.79±2.0 C	31.8±4.2 BC	233.1±17.0 A
++	24.4±21.7 BC	228.2±85.8 B	29.5±1.7 A	9.7±0.9 C	28.2±0.5 C	166.3±36.8 B
	P<0.000	P<0.000	P<0.000	P=0.090	P<0.000	P<0.000

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia

Cuadro 13. Actividad insectistática del extracto metanólico de hojas de *Crataegus mexicana* de Comonfort (Hs2)

Tratamiento (ppm)	Peso 10 d (mg)	Peso 20 d (mg)	Duración larval (d)	Duración pupal (d)	Duración acumulada (d)	Peso pupal (mg)
10000	22.9±22.7 B	113.3±90.7 C	30.3±1.0 A	8.6±0.5 A	39.0±1.2 A	169.1±14.6 BC
7000	34.2±20.0 B	162.6±83.5 BC	30.0±0.0 A	8.4±0.5 A	38.4±0.5 A	131.6±38.6 C
4500	31.85±12.6 B	231.4±80.4 AB	28.1±0.8 A	8.8±0.4 A	37.0±1.2 A	150.5±26.4 BC
3000	18.7±16.4 B	140.9±79.1 C	28.8±0.8 A	9.2±1.0 A	38.0±1.0 A	155.5±40.8 BC
1000	29.4±24.3 B	228.0±88.1 AB	28.3±1.1 A	9.2±0.8 A	37.4±1.1 A	171.3±28.6 B
0	72.2±41.16 A	309.6±79.6 A	22.00±3.3 B	9.7±2.0 A	31.8±4.2 B	233.1±17.0 A
++	24.4±21.7 B	228.2±85.8 AB	29.5±1.7 A	9.7±0.9 A	39.2±0.9 A	166.3±36.8 BC
	P<0.000	P<0.000	P<0.000	P=0.195	P<0.000	P<0.000

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

1 Los extractos Ts1 y Hs2 presentaron actividad insecticida contra *S. frugiperda*, la
2 mortalidad larval en Ts1 se mostró en los tratamientos de 7000 y 10000 ppm con
3 valores 70 % y 80 % respectivamente; la CL₅₀ larval para el extracto de tallos de
4 huasca fue 5788.92 ppm y 4839.12 ppm para la CL₅₀ acumulada. Por otro lado, el
5 extracto Hs2 presentó dicha actividad a 7000 y 10000 ppm con valores de
6 mortalidad larval de 60 % y 70 % respectivamente comportándose similar al control
7 positivo (PHCNEEM), producto comercial; la mortalidad acumulada en ambas
8 concentraciones fue de 70 % y la CL₅₀ larval y acumulada son 6362.71 y 5395.78
9 ppm respectivamente.

10 La actividad insectistática y antialimentaria fue presente en todos los extractos
11 evaluados: para el extracto Ts1 a los 10 d, el peso larval disminuyó un 85.49 %
12 87.46 % para el tratamiento de 7000 ppm y 10000 ppm respectivamente. La
13 duración acumulada en Ts1 aumentó desde 17.39 % hasta 69.56 % con respecto al
14 control negativo para los tratamientos por encima de 4500 ppm y el peso pupal
15 disminuyó desde un 30 % hasta un 51.32 % (Cuadro 6).

16 En el extracto Ts2 (Cuadro 7) hubo disminución del peso a los 10 d en
17 concentraciones por encima de 3000 ppm, esta disminución va desde 19.24 % hasta
18 54.84 %. El peso pupal disminuyó desde un 24.41 % hasta un 40.29 %.

19 Por otro lado, en el extracto Hs1 el peso larval disminuyó en un 85.56 % para los 10
20 d y hasta un 68.71 % para los 20 d, de igual manera el peso pupal disminuyó de un
21 18.66 % hasta un 26.26 % en base al control negativo.

22 El extracto Hs2 presentó actividad insectistática debido a que el peso larval a los 10
23 d disminuyó hasta un 74.03 % y a los 20 d los tratamientos 3000, 7000 y 10000
24 mostraron hasta una disminución del 63.40 %, el peso pupal disminuyó hasta un
25 43.54 %.

26 Diversos autores han evaluado extractos botánicos de la familia Rosaceae contra
27 lepidópteros, tal es el caso de Pavela et al., (2004) los cuales evaluaron la actividad
28 insecticida del extracto metanólico de *Sanguisorba officinalis* contra *Spodoptera litura*
29 (Lepidoptera: Noctuide) en donde obtuvieron una CL₅₀ 18 ppm, dicho valor es
30 respecto a las CL₅₀ reportadas en este trabajo en donde los dos extractos con

31 actividad insecticida Ts1 y Hs2 denotaron una CL₅₀ acumulada de 5788.92 y
32 6362.71 ppm. Asimismo, se ha reportado actividad insecticida por parte de extractos
33 de acetato de etilo (5%) de *Crataegus pinnatifida* contra *Tribolium castaneum*
34 (Coleoptera: Tenebrionidae) en donde reportaron una mortalidad del 47.5% a los 21
35 d, dicho porcentaje es menor a lo obtenido en este trabajo ya que los extractos Ts1
36 y Hs2 reportaron una mortalidad acumulada de 85 y 70 % respectivamente a 10000
37 ppm.

38 Otros extractos botánicos pertenecientes a la familia Rosaceae han mostrado
39 actividad biológica contra diversas plagas agrícolas, por ejemplo: en el estudio
40 realizado por Shehata (2019) se evaluaron extractos metanólicos clorofórmicos y de
41 éter de petróleo de hojas de *Prunus domestica* los cuales presentaron actividad
42 larvicida contra *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) reportando CL₅₀ de 132.7, 70.8 y
43 33.3 ppm respectivamente; en el presente estudio la CL₅₀ larval es mayor que lo
44 reportado por Shehata (2019) pues los extractos Ts1 y Hs2 tienen una CL₅₀
45 acumulada de 5788.92 y 6362.71 ppm respectivamente, De igual manera Sleem
46 (2020) reportó mortalidades de 53.33 y 100 % a las 24 y 48 h por parte de extracto
47 de éter de petróleo (0.25 %) de semillas de *Prunus cerasus* sobre adultos
48 *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), a las 48 h la mortalidad es mayor
49 que la obtenida en este trabajo.

50 De igual modo Abdulhay (2012) evaluó la actividad insecticida de extractos
51 metanólicos y acuosos de *Prunus armeniaca* contra *Tribolium confusum*
52 (Coleoptera: Tenebrionidae), a los 7 d reportaron una CL₅₀ de 4192.0 ppm para el
53 extracto metanólico, dicho valor es menor a la CL₅₀ obtenida en el extracto Ts1 y
54 Hs2 (5788.92 y 6362.71 ppm); mientras que el extracto acuoso de *Prunus*
55 *armeniaca* señaló una CL₅₀ 54854.0 ppm, concentración por encima de lo obtenido
56 en este trabajo. A los 14 d reportaron CL₅₀ de 2384 y 77079 ppm para los extractos
57 metanólico y acuoso respectivamente; así mismo el extracto metanólico tiene menor
58 CL₅₀ que los extracto Ts1 y Hs2, mientras que el acuoso muestra una CL₅₀ por
59 encima de los mismos (Abdulhay, 2012).

60

61 Raghavendra et al. (2021) reportaron actividad insecticida de extractos de *Rubus*
62 *steudneri* contra los géneros *Aedes* (Diptera: Culicidae) y *Culex* (Diptera: Culicidae)
63 obteniendo 100 % de mortalidad larval 1000 ppm; el extracto de *Rubus apetalus*
64 mostró el 100 % de mortalidad larval en especies de *Aedes* a 5000 ppm. Las
65 mortalidades previamente mencionadas son mayores en comparación a los
66 obtenidos por los extractos de Ts1 y Hs2 a 10000 ppm (85 y 70 % respectivamente).

67

68 **6.2 Identificación y cuantificación del ácido oleanólico**

69 Para la cuantificación del ácido oleanólico por HPLC se realizó una curva de
70 calibración empleando las concentraciones del Cuadro 14. El gráfico obtenido de la
71 curva de calibración se puede apreciar en la Figura 12 en donde se obtuvo una
72 correlación $R^2 = 0.999$; los límites de detección y cuantificación para esta curva de
73 calibración fueron 4.20 y 7.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente.

74 Por otro lado, también se realizó la cuantificación de ácido ursólico, triterpenoide
75 presente en extractos de *Crataegus spp.* (Martinelli et al., 2021; Torres-Ortiz et al.,
76 2019; Dehghani et al., 2019; Tohtahon et al., 2017); los datos para la curva de
77 calibración del ácido ursólico se muestran en el cuadro15, dichos valores fueron
78 graficados (Figura 13) en donde se puede observar una $R^2 = 0.999$; los límites de
79 detección y cuantificación para esta curva de calibración fueron 78.3 y 130.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$
80 respectivamente.

81

82 **Cuadro 14.** Datos de concentración y áreas bajo la curva para ácido oleanólico

[$\mu\text{g mL}^{-1}$]	Área
0	0
20	305856
40	653950
60	1040115
80	1421298
100	1805810
120	2147284

83

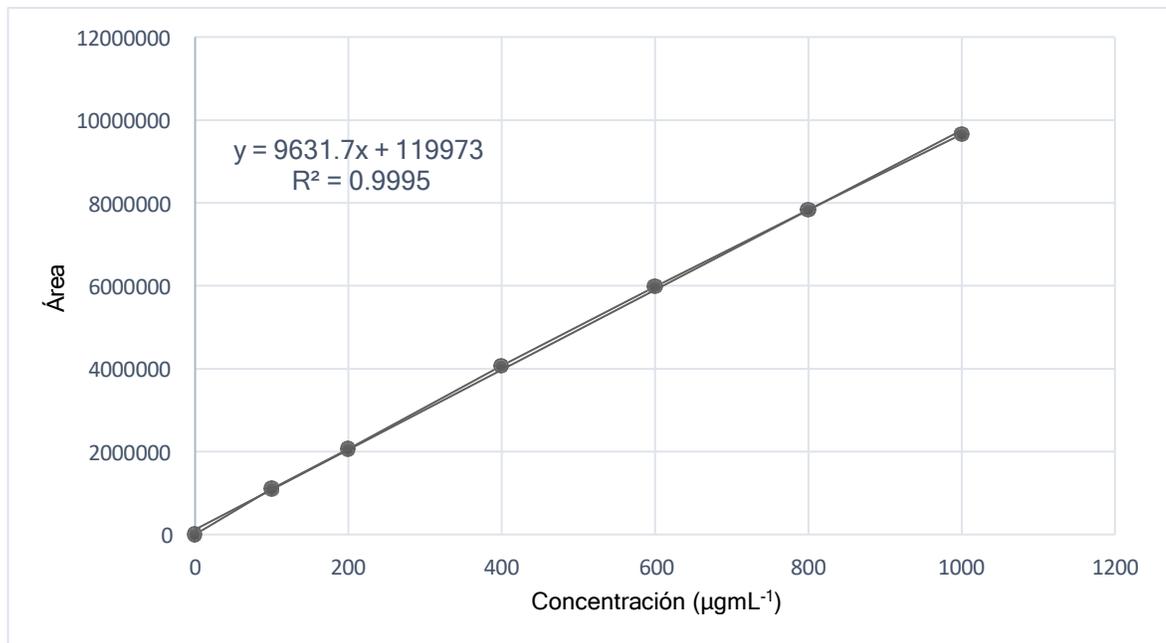
84

85
86

Cuadro 15. Datos de concentración y áreas bajo la curva para ácido ursólico

[$\mu\text{g mL}^{-1}$]	Área
0	0
100	1100300
200	2064504
400	4066118
600	5980368
800	7831932
1000	9654751

87
88
89



90
91
92
93

Figura 12. Curva de calibración de ácido oleanólico.

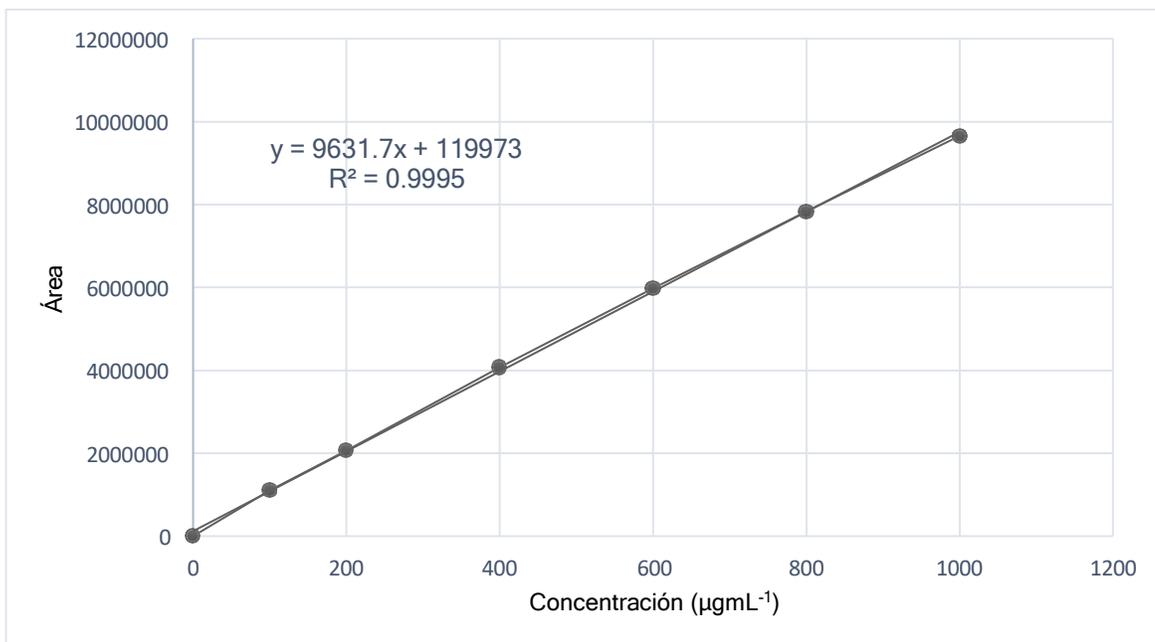
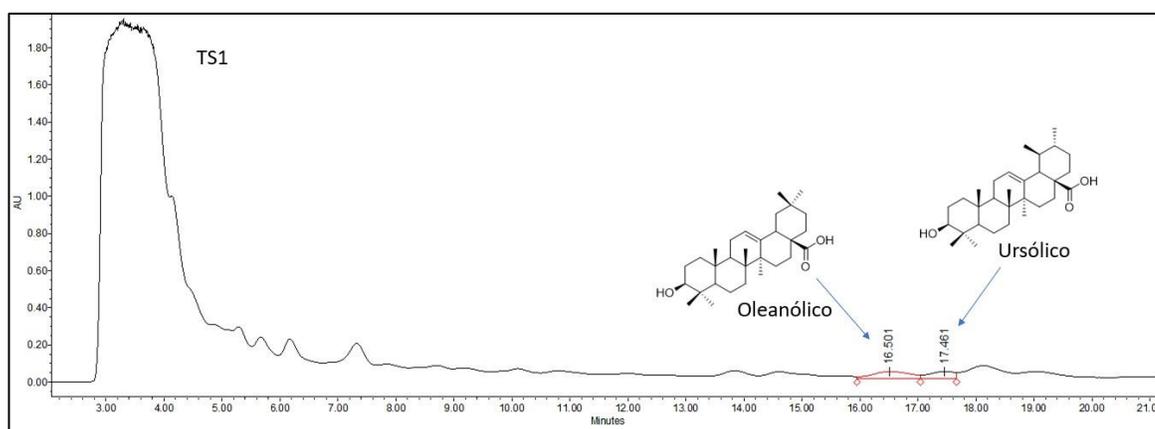


Figura 13. Curva de calibración de ácido ursólico.

94
95
96

97 En las Figuras 14-17 se puede observar los cromatogramas resultantes de los
98 diferentes extractos (Ts1, Ts2, Hs1, Hs2) evaluados en este estudio, en donde se
99 muestra la presencia de los ácidos triterpénicos de interés, la señal a los 16.3 min
100 corresponde al ácido oleanólico y a los 17.0 min se observa otro pico indicando la
101 presencia de ácido ursólico.

102



103
104

Figura 14. Cromatograma del extracto metanólico Ts1.

105
106
107

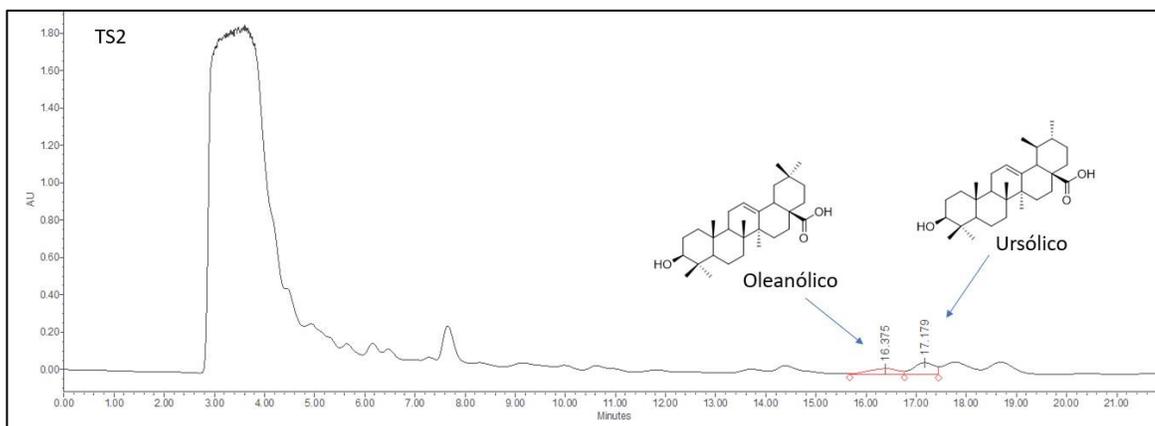


Figura 15. Cromatograma del extracto metanólico Ts2.

108
109
110

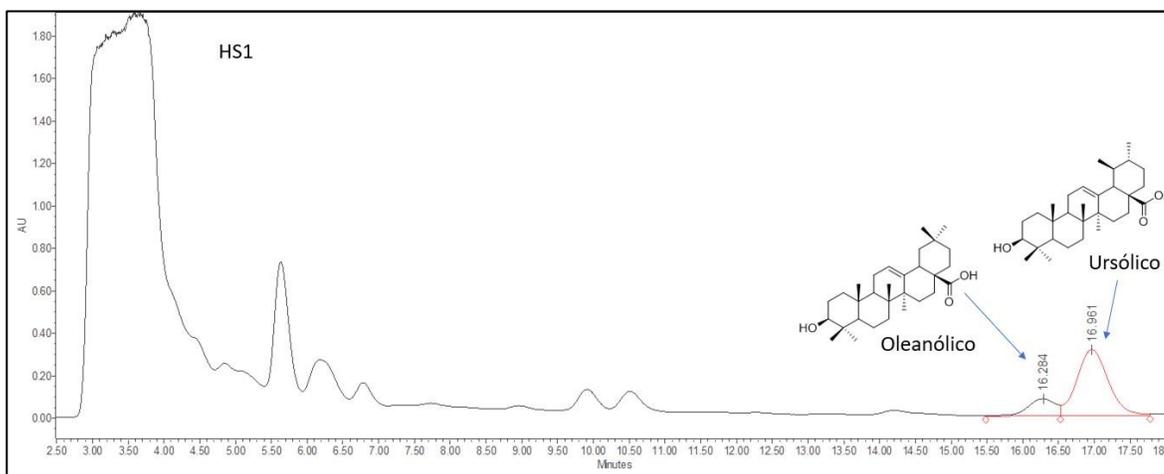


Figura 16. Cromatograma del extracto metanólico Hs1.

111
112
113
114

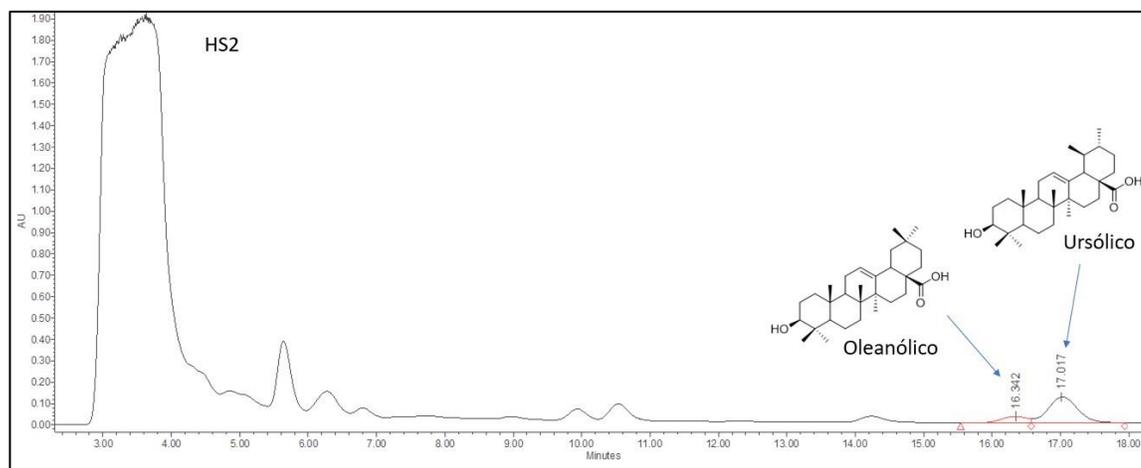


Figura 17. Cromatograma del extracto metanólico Hs2.

115 Posteriormente se realizó la cuantificación de dichos triterpenos mediante las áreas
 116 bajo la curva de cada pico y la cantidad de extracto utilizada; se puede observar que
 117 los extractos de hojas (Hs1 y Hs2) contienen la mayor cantidad de ácido oleanólico
 118 12.21 y 4.50 mgg⁻¹, al igual que de ácido ursólico 97.24 y 37.49 la pupa a las 24 h de
 119 su formación respectivamente. Se confirma la presencia de ácido oleanólico y
 120 ursólico en extractos del género *Crataegus* tal como lo reporta Torres-Ortiz et al.
 121 (2020) y Khokhlova et al. (2020).

122
 123
 124

Cuadro 16. Concentración del ácido ursólico y oleanólico en tallo y hojas de
Crataegus mexicana.

Muestra	Ácido oleanólico (mgg ⁻¹ de extracto)	Ácido ursólico (mgg ⁻¹ de extracto)
Hs1	12.21 ± 2.73	97.24 ± 0.42
Hs2	4.50 ± 0.19	37.49 ± 0.63
Ts1	3.84 ± 0.05	4.20 ± 0.36
Ts2	2.40 ± 0.15	7.00 ± 0.40

125 Cada valor es la media de 3 repeticiones ± desviación estándar de la media
 126

127 La presencia de metabolitos secundarios en los extractos botánicos son los que le
 128 confieren actividad insecticida y/o insectistática contra *S. frugiperda* (Paredes-
 129 Sánchez et al., 2021); en todos los extractos evaluados en el presente trabajo (Ts1,
 130 Hs1, Ts2 y Hs2) podemos observar la presencia del ácido oleanólico y ácido ursólico
 131 (Cuadro 16), triterpenos que podrían estar relacionados con la actividad
 132 insectistática de los extractos metanólicos de *C. mexicana*. Todos los extractos
 133 mostraron disminución en el peso larval a los 10 d en donde el extracto Ts1 tuvo
 134 mayor disminución (87.46 %) que los demás; el peso pupal también se disminuyó
 135 en donde el extracto Hs2 mostro la mayor disminución (43.54 %).

136 Sin embargo, la cantidad de ácidos triterpénicos en el extracto no está directamente
 137 relacionada con la actividad insecticida; el extracto Ts1 mostro la mayor mortalidad
 138 (80 %) a 10000 ppm, sin embargo, tiene menor cantidad de ácido oleanólico (3.84
 139 mgg⁻¹) y ursólico (4.20 mgg⁻¹) en comparación con el extracto Hs2 el cual tiene 4.50
 140 mgg⁻¹ de ácido oleanólico y 37.49 mgg⁻¹ de ursólico pero una mortalidad de 70 % a
 141 10000 ppm. Lo anterior podría deberse a la presencia de otros triterpenos en los

142 extractos evaluados, Torres-Ortiz et al. (2019) identificaron la presencia de ácido
 143 corosólico y euscápico en los extractos metanólicos de las hojas y flores
 144 de *Crataegus gracilior*.

145

146 **6.3 Actividad insecticida e insectistática del ácido oleanólico**

147 Se puede apreciar en el cuadro 17 la actividad insecticida del ácido oleanólico sobre
 148 *S. frugiperda*; en donde la mortalidad larval y acumulada no presenta diferencia
 149 significativa entre los tratamientos y el control negativo, sin embargo, en el
 150 tratamiento a 500 ppm de la columna de % mortalidad acumulada hay diferencia
 151 significativa respecto al control obteniendo una mortalidad del 100 %. La
 152 concentración letal media larval es 808.2 ppm y 387.2 ppm para la CL₅₀ acumulada.

153

154 **Cuadro 17. Actividad insecticida del ácido oleanólico**

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
1000	40.0±24.5 A	40.0±24.5 A	80.0±20.0 AB
700	40.0±24.5 A	20.0±20.0 A	60.0±24.5 AB
500	80.0±20.0 A	20.0±20.0 A	100.0±0.0 A
300	40.0± 24.5 A	0.0±0.0 A	40.0±24.5 AB
100	0.0±0.0 A	20.0±20.0 A	20.0±20.0 AB
0	20.0±13.3 A	0.0±0.0 A	20.0±13.3 B
	P=0.140	P=0.379	P<0.019
CL ₅₀	808.2 ppm (ND)		387.2 ppm (82.5-142.5 ppm)

155 Cada valor es la media de 5 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica
 156 diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

157

158 Se puede apreciar en el cuadro 18 que el peso larval a los 10 y 20 d disminuyó en
 159 un 84.5 y 73.5 % respectivamente en comparación con el control negativo, ambos
 160 en los tratamientos de 10000 ppm, demostrando que el ácido oleanólico presenta
 161 actividad antialimentaria. En la duración larval, pupal y acumulada no hay diferencia
 162 significativa entre los tratamientos evaluados y el testigo. Por otro lado, existe una

163 diferencia entre el peso pupal de los tratamientos respecto al control, los
164 tratamientos entre si son similares estadísticamente; la disminución del peso pupal
165 va desde 21.2 % al 28.2 %.

166 El ácido oleanólico tiene actividad antialimentaria contra *S. frugiperda* debido a que
167 el peso larval a los 10 y 20 días disminuyó, de igual manera el peso pupal disminuyó
168 en hasta un 28.2 %. Autores como Shukla et al. (1997) también reportaron actividad
169 antialimentaria por parte del ácido oleanólico contra dos lepidópteros, *Spilosoma*
170 *obliqua* y *Spodoptera litura*, en donde reportaron un 98.7 % y un 97.2 % de
171 disuasión alimentaria respectivamente a una concentración de 3000 ppm. Leite et
172 al. (2008) evaluaron cinco triterpenos contra *S. frugiperda* entre ellos el ácido
173 oleanólico, el cual fue aislado de tallos y frutos de *Cedrela fissilis* (Meliaceae), se
174 observó una prolongación de la fase larvaria y una reducción en el peso pupal,
175 además reportaron una mortalidad larval del 90 % a ; estos resultados son similares
176 a los obtenidos en este estudio ya que el peso pupal se redujo tanto en los
177 tratamientos con ácido oleanólico como en los extractos de *C. mexicana* , sin
178 embargo en los tratamientos con los extractos (Ts1, Ts2, Hs1, Hs2) en donde
179 observamos una prolongación de la fase larvaria. Se ha evaluado la actividad de
180 otros triterpenos además del ácido oleanólico presentes en el género *Crateugus*
181 como el ácido ursólico en donde Da Silva et al. (2016) reportaron actividad larvicida
182 contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) obteniendo CL₅₀ de 112 ppm
183 respectivamente después de 48 h de exposición.

184 **Cuadro 18.** Actividad insectistática del ácido oleanólico

Tratamiento (ppm)	Peso 10 d (mg)	Peso 20 d (mg)	Duración larval (d)	Duración pupal (d)	Duración acumulada (d)	Peso pupal (mg)
1000	19.8±8.9 B	73.4±62.1 B	27.6±0.8 A	11.0±0.0 A	31.3±2.8 A	179.0±6.0 B
700	86.4±48.3 AB	229.2±114.2 AB	26.0±0.0 A	10.6±0.3 A	36.6±0.3 A	163.3±8.9 B
500	35.0±24.5 AB	162.8±102.9 AB	26.0±0.0 A	0.0±0.0 A	0.0±0.0 A	0.0±0.0 C
300	25.6±15.5 AB	322.3±86.0 A	26.3±0.3 A	11.0 ±0.5 A	37.3±0.6 A	163.0±5.1 B
100	64.6±60.7 AB	226.2±42.3 AB	25.7±0.2 A	10.3±0.3 A	33.5±2.5 A	170.0±11.1 B
0	128.1±71.4 A	277.3±69.7 A	23.3±1.2 A	9.8±0.3 A	33.2±1.5 A	227.3±4.4 A
	P=0.008	P=0.003	P=0.189	P=0.438	P=0.334	P<0.000

185 Cada valor es la media de 5 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos
 186 con letras diferentes indican diferencia

4. CONCLUSIONES

Los extractos Ts1 y Hs2 mostraron actividad insecticida a partir de 7000 ppm; todos los extractos mostraron actividad insectistática y antialimentaria en donde el peso larval disminuyo en hasta un 87% y la duración acumulada aumentó hasta un 69.56 %.

Se identifico y cuantifico la presencia de ácido oleanólico y acido ursólico en los extractos de *Crataegus mexicana*, estos están relacionados con la actividad insectistática y alimentaria contra *Spodoptera frugiperda*.

El ácido oleanólico presento actividad antialimentaria, el peso larval a los 10 d disminuyó hasta 84.5 % mientras que el peso pupal en un 28.2 % a 10000 ppm.

8. PERSPECTIVAS

De acuerdo a los resultados obtenidos es necesario realizar bioensayos para determinar la actividad insecticida y/o insectistática del ácido ursólico, compuesto cuantificado en la presente investigación; ya que este triterpeno también podría conferirle actividad biológica a los extractos de *Crataegus mexicana* contra *Spodoptera frugiperda*.

9. REFERENCIAS

Abdulhay, H. S. (2012). Insecticidal activity of aqueous and methanol extracts of apricot *Prunus armeniaca* L. kernels in the control of *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera: Tenebrionidae). *Al-Mustansiriyah Journal of Science*, 23(6), 7-18.

Akyazi, R., Soysal, M., & Hassan, E. (2015). Toxic and repellent effects of *Prunus laurocerasus* L. (Rosaceae) extracts against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Turkish Journal of Entomology*, 39(4).

Andrade-Ochoa, S., Sánchez-Torres, L. E., Nevárez-Moorillón, G. V., Camacho, A. D., & Noguera-Torres, B. (2017). Aceites esenciales y sus componentes como una alternativa en el control de mosquitos vectores de enfermedades. *Biomedica*, 37, 224-243.

Banderas-Tarabay A., Cervantes-Rodríguez M. and Méndez-Iturbide D. (2015). Biological properties and antioxidant activity of hawthorn *Crataegus mexicana*. *Journal of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics*, 6(4), 1.

Castellano, J. M., Ramos-Romero, S., & Perona, J. S. (2022). Oleanolic acid: Extraction, Characterization and Biological Activity. *Nutrients*, 14(3), 623.

Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF). (2021). Ficha Técnica:

Gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).
Gobierno de México. Disponible
en:https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/635234/Gusano_cogollero_en_ma_z_y_arroz.pdf Consultado: 20 de noviembre 2023

Cervantes-Cardoza, V., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Rosales-Castro, M., Medina-Torres, L., & González-Laredo, R. F. (2010). Actividad antioxidante de extractos de semilla de tres variedades de manzana (*Malus domestica* Borkh-Rosaceae-). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(6), 446-456.

Clemente, S. V., Mareggiani, G., Broussalis, A., & Ferraro, G. (2007). Actividad insecticida de 1, 8-cineol sobre mosca de los frutos, *Ceratitis capitata* Wied (Diptera: Tephritidae). *Dominguezia*, 23(1), 29-34.

CONACYT. (2022). Maíz [Consultado el 09 marzo de 2022]. Disponible en: <https://conacyt.mx/cibiogem/maiz>

CONAFOR (s.f.) *Crataegus mexicana* Moc. Sessé. [Consultado: 21 de octubre 2023]. Enlace: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/908Crataegus%20mexicana.pdf>

Da Silva, G. N., Trindade, F. T., Dos Santos, F., Gosmann, G., e Silva, A. A., and Gnoatto, S. C. (2016). Larvicidal activity of natural and modified triterpenoids against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Pest Management Science*, 72(10), 1883-1887.

de la Luz Sierra-Ruíz, M., García-Rodríguez, Y. M., Torres-Martínez, R., Delgado-Lamas, G., & Espinosa-García, F. J. (2022). Procedimientos para establecer y mantener una cría del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) en

condiciones de laboratorio. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 26(1), 134-154.

Dehghani, S., Mehri, S., & Hosseinzadeh, H. (2019). The effects of *Crataegus pinnatifida* (Chinese hawthorn) on metabolic syndrome: A review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(5), 460.

Deole, S., & Paul, N. (2018). First report of fall army worm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), their nature of damage and biology on maize crop at Raipur, Chhattisgarh. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(6), 219-221.

Dini, I.; Tenore, GC; Dini, A. 2009. Saponinas en tubérculos de *Ipomoea batatas*: aislamiento, caracterización, cuantificación y propiedades antioxidantes. *Química de los alimentos* 113, 411–419

Durán-Aguirre, C. E., Pratisoli, D., Carvalho, J. R. D., Pacheco Damascena, A., Araujo Junior, L. M. D., & Bolsoni Zago, H. (2020). Actividad insecticida de aceites esenciales sobre *Helicoverpa armígera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae). *Idesia* (Arica), 38(4), 59-64.

Dzubak, P.; Hajdich, M.; Vydra, D.; Hustova, A.; Kvasnica, M.; Biedermann, D.; Markova, L.; Urbano, M.; Sarek, J. 2006. Actividades farmacológicas de los triterpenoides naturales y sus implicaciones terapéuticas. *Nat. Pinchar.*, 23, 394–411

Figuroa-Gualteros, a. m., Castro-Triviño, e. a., y Castro-Salazar, h. t. (2019). Efecto bioplaguicida de extractos vegetales para el control de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo de maíz (*Zea mays*). *Acta biológica colombiana*, 24(1), 58-66.

Franco-Mora, O., Aguirre-Ortega, S., Morales-Rosales, E. J., González-Huerta, A.,

y Gutiérrez-Rodríguez, F. (2010). Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *Ciencia ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 17(1), 61-66.

García Alanís, K. G., Castillo, S., Cuevas Rodríguez, A. A., Leal Villalón, N. M., Lozano Medellín, M., & Noriega Sánchez, M. J. (2019). Obtención y caracterización químico-nutricia de harinas de olote de maíz en etapa R3 (masoso). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 87-90.

Guo, J., Wu, S., Zhang, F., Huang, C., He, K., Babendreier, D., y Wang, Z. (2020). Prospects for microbial control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: a review. *BioControl*, 65(6), 647-662.

Hassaan, M. A., y El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*.

Hernández-Pérez, A., Bah, M., Ibarra-Alvarado, C., Rivero-Cruz, J.F., Rojas-Molina, A., Rojas-Molina, J.I. & Cabrera-Luna, J.A. (2014). Aortic relaxant activity of *Crataegus gracilior* phipps and identification of some of its chemical constituents. *Molecules* 19 (12), 20962–20974. [https://doi.org/ 10.3390/molecules191220962](https://doi.org/10.3390/molecules191220962)

Hernández-Trejo, A., Estrada Drouaillet, B., Rodríguez-Herrera, R., García Giron, J. M., Patiño-Arellano, S. A., & Osorio-Hernández, E. (2019). Importancia del control biológico de plagas en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(4), 803-813.

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

Jing, W. A. N., HUANG, C., LI, C. Y., ZHOU, H. X., REN, Y. L., LI, Z. Y., & WAN, F. H. (2021). Biology, invasion and management of the agricultural invader: Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Integrative Agriculture*, 20(3), 646-663.

Jyoti, M. A., Nam, K. W., Jang, W. S., Kim, Y. H., Kim, S. K., Lee, B. E., & Song, H.Y. (2016). Antimycobacterial activity of methanolic plant extract of *Artemisia capillaris* containing ursolic acid and hydroquinone against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 22(4), 200-208.

Kenis, M., Benelli, G., Biondi, A., Calatayud, P. A., Day, R., Desneux, N., & Wu, K. (2022). Invasiveness, biology, ecology, and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Entomologia Generalis*.

Khokhlova, K., Zdoryk, O., & Vyshnevskaya, L. (2020). Chromatographic characterization on flavonoids and triterpenes of leaves and flowers of 15 *Crataegus* L. species. *Natural product research*, 34(2), 317-322.

Leite, A. C., Matos, A. P., Batista-Pereira, L. G., Fernandes, J. B., Vieira, P. C., & da Silva, M. D. G. (2008). Activity of triterpenoids from *Cedrela fissilis* (Meliaceae) against *Spodoptera frugiperda*. *Biopesticides International*, 4(1), 28-34.

Liu, J., (2005). Ácido oleanólico y ácido ursólico: perspectivas de investigación. *J. Etnofarmacol*, 100, 92–94

Martinelli, F., Perrone, A., Yousefi, S., Papini, A., Castiglione, S., Guarino, F., & Salami, S. A. (2021). Botanical, phytochemical, anti-microbial and pharmaceutical characteristics of hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.), Rosaceae. *Molecules*, 26(23), 7266.

Miyazawa, M., Nakamura, Y., & Ishikawa, Y. (2000). Insecticidal sesquiterpene from *Alpinia oxyphylla* against *Drosophila melanogaster*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3639-3641.

Mokhtar, M. M., Li, J., Du, Z., & Cheng, F. (2021). Preliminary phytochemical analysis and biological evaluation of four medicinal chinese plant extracts against *Tribolium castaneum*. *Sains Malaysiana*, 50(8), 2283-2292.

Montezano, D. G., Sosa-Gómez, D. R., Specht, A., Roque-Specht, V. F., Sousa-Silva, J. C., Paula-Moraes, S. D., & Hunt, T. E. (2018). Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African entomology*, 26(2), 286-300.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2020). Manejo integrado de plagas y plaguicidas. [Consultado el 08 marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/ipm/es/>

Ornelas-Lim, C., Luna-Vázquez, F. J., Rojas-Molina, A., e Ibarra-Alvarado, C. (2021). Development of a quantified herbal extract of hawthorn *Crataegus Mexicana* leaves with vasodilator effect. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(11), 1258-1266.

Overton, K., Maino, J. L., Day, R., Umina, P. A., Bett, B., Carnovale, D., & Reynolds, O. L. (2021). Global crop impacts, yield losses and action thresholds for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A review. *Crop Protection*, 145, 105641

Paredes-Sánchez, F. A., Rivera, G., Bocanegra-García, V., Martínez-Padrón, H. Y., Berrones-Morales, M., Niño-García, N., & Herrera-Mayorga, V. (2021). Advances in control strategies against *Spodoptera frugiperda*. A review. *Molecules*, 26(18),

5587.

Pavela, R., & Chermenskaya, T. (2004). Potential insecticidal activity of extracts from 18 species of medicinal plants on larvae of *Spodoptera littoralis*—Short Communication. *Plant Protection Science*, 40(4), 145.

Palomo, I., Gutiérrez, M., Astudillo, L., Rivera, C., Torres, C., Guzmán, L., ... & Alarcón, M. (2009). Efecto antioxidante de frutas y hortalizas de la zona central de Chile. *Revista chilena de nutrición*, 36(2), 152-158

Pioneer. (2017). Manejo de gusano cogollero en cultivos de maíz [Consultado el 08 marzo de 2022]. Disponible en: https://www.pioneer.com/cmroot/international/argentina_intl/agronomia/manejo_de

Raghavendra, H. L., Kekuda, T. P., Shetty, C. R., & Shantaram, M. (2021). Insecticidal efficacy of *Rubus steudneri* and *Rubus apetalus* against *Aedes* (Diptera: Culicidae) and *Culex* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Biomedicine*, 41(2), 427-430.

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

Rioba, N. B., & Stevenson, P. C. (2020). Opportunities and scope for botanical extracts and products for the management of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) for smallholders in Africa. *Plants*, 9(2), 207.

Robles-Botero, M. V., Ronquillo-de Jesús, E., Quiroz-Reyes, C. N., & Aguilar-Méndez, M. A. (2020). Caracterización e identificación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de la cáscara, pulpa y semilla del fruto de tejocote

(*Crataegus mexicana*). Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 23.

Santos-Alves, D., Andrade-Carvalho, G., Ferreira-Oliveira, D., & Duarte-Corrêa, A. (2018). Screening of Brazilian plant extracts as candidates for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 44(1), 32-38.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) (2021). Maíz, cultivo de México. [Consultado el 20 noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/maiz-cultivo-de-mexico?idiom=es>

Secretaría de Bienestar. (2022). Maíz, La planta sagrada de México para el mundo. Gobierno de México. [Consultado el 03 marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.gob.mx/bienestar/es/articulos/maiz-la-planta-sagrada-de-mexico-para-el-mundo?idiom=es>

Shehata, A. Z. (2019). Biological activity of *Prunus domestica* (Rosaceae) and *Rhamnus cathartica* (Rhamnaceae) leaves extracts against the mosquito vector, *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control*, 11(1), 65-73.

Shukla, Y. N., Tripathi, A. K., & Mehta, V. K. (1997). Feeding-deterrence of oleanolic acid isolated from *Panax quinquefolium* against lepidopterans. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products*, 11(8), 591-593.

Sleem, F. M. A. (2020). Insecticidal effect of *Piper nigrum* L. (Piperaceae) and *Prunus cerasus* L. (Rosaceae) Seeds Extract against *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae). *Int. J. Agric. Innovations & Res*, 9(3), 245-252.

Tay, W. T., Meagher Jr, R. L., Czepak, C., & Groot, A. T. (2023). *Spodoptera frugiperda*: ecology, evolution, and management options of an invasive species. *Annual Review of Entomology*, 68, 299-317.

Tohtahon, Z., Zhang, L., Han, J., Xie, X., Tu, Z., & Yuan, T. (2017). Extraction optimization, structural characterization and bioactivity evaluation of triterpenoids from hawthorn (*Crataegus cuneata*) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, 41(4), e12377.

Torres-Ortiz, D. A., Eloy, R. D., Moustapha, B., César, I. A., Edmundo, M. S., Jesús Eduardo, C. R., & Dulce María, R. P. (2020). Vasorelaxing effect and possible chemical markers of the flowers of the Mexican *Crataegus gracilior*. *Natural product research*, 34(24), 3522-3525.

Vallejo-González, M. N., Monterrubio-Angulo, E., & Guzmán-Saldaña, R. M. E. (2018). Ácido Ursólico y Composición Corporal. *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 7(13), 22-23.

Vatanparast, M., & Park, Y. (2022). Cold tolerance strategies of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Scientific Reports*, 12(1), 1-16