

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



USO DE LOS EXTRACTOS DE CHIPILÍN Y CHICALOTE EN EL CONTROL DEL
PATOSISTEMA *CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM-
BACTERICERA COCKERELLI* EN EL CULTIVO DE TOMATE

Tesis

Que como requisito parcial para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

Presenta: HENRY LÓPEZ LÓPEZ

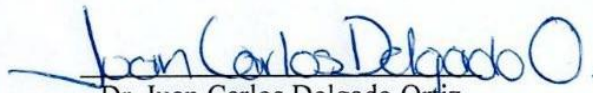
Saltillo, Coahuila

Julio 2023

USO DE LOS EXTRACTOS DE CHIPILÍN Y CHICALOTE EN EL CONTROL DEL
PATOSISTEMA *CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM-
BACTERICERA COCKERELLI* EN EL CULTIVO DE TOMATE


Tesis

Elaborada por HENRY LÓPEZ LÓPEZ como requisito parcial
Para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Parasitología Agrícola
con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría




Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz

Asesor Principal




Dra. Yisá María Ochoa Fuentes

Asesor



Dr. Ernesto Cerna Chávez

Asesor



Dr. Epifanio Castro Del Ángel

Asesor



Dra. Mariana Beltrán Beache

Asesor



Dr. Antonio Flores Naveda

Subdirector de Postgrado

UAAAN

Saltillo, Coahuila

Julio 2023

Agradecimientos

Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías** (CONAHCYT) por brindarme los recursos a través de la autorización de la beca (número 777528) para efectuar mis estudios de postgrado.

A **Dios** todopoderoso que me ha conservado con vida, salud e inteligencia, me ha guiado y protegido hasta el día de hoy. Por tener una familia a quien amar y por ser útil a mis semejantes, estoy agradecido.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por haberme brindado la oportunidad de obtener una formación académica de calidad durante mi licenciatura y doctorado.

A mi director de tesis, el **Dr. Juan Carlos Delgado Ortiz**, por el apoyo y disposición, que sin duda fueron de gran ayuda durante mi investigación.

A la **Dra. Yisa María Ochoa Fuentes**, por sus comentarios y sugerencias para el desarrollo de la tesis y culminar este trabajo de la manera más eficaz posible.

Al **Dr. Ernesto Cerna Chávez** por el apoyo y los conocimientos compartidos durante el desarrollo del proyecto.

Al **Dr. Epifanio Castro del Ángel** por su apoyo y disposición durante el desarrollo de este proyecto.

A la **Dra. Mariana Beltrán Beache**, por sus observaciones y sugerencias para el desarrollo de la tesis y finalizar este trabajo de la mejor forma posible.

A la **Dra. Rosa Isela Cruz Hernández**, a la **Dra. Selene Lagunas Rivera**, al **Dr. Agustín Hernández Juárez**, a la **Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez**, al **Dr. Moisés Roberto Vallejo Pérez** y a la **T.L.Q. María Guadalupe Pérez Ovalle** por su apoyo, enseñanzas y ayudarme a complementar las habilidades necesarias para mi investigación. Asimismo, por demostrar su actitud profesional con una calidad humana y sensibilidad que siempre serán un ejemplo para aquellos que hemos tenido el gusto de conocerlos.

Dedicatoria

A mis padres **Virgilio López Hernández** y **Areli López Luna**, hermanos **Marleny y Gilberth** y sobrinos **María Fernanda, Brian Alexander, Héctor Ulises y Santiago Sebastián**. Agradezco su incondicional amor, apoyo y sacrificio a lo largo de mi vida. Se han convertido en mis pilares y guías, siempre alentándome a alcanzar mis objetivos y animándome en los momentos difíciles.

A mi esposa **María Yesenia** y a mi hijo **Dylan Tadeo**, esta tesis es el resultado de su amor, dedicación y sacrificio. Cada página escrita y cada logro alcanzado llevan consigo su influencia y respaldo. Espero que este trabajo les haga sentir orgullosos y sea un testimonio de su valiosa influencia en mi formación académica y personal. No solo es un logro personal, sino que también es un reconocimiento a ustedes, quienes han sido mi mayor inspiración y fortaleza.

Carta de aceptación de los artículos

Información sobre la publicación del Volumen 121 (num 2) de 2022

Revista FCAyF-UNLP <revagro@agro.unlp.edu.ar>

Jue 23/02/2023 6:02

Para: thomas.esteban@inta.gob.ar <thomas.esteban@inta.gob.ar>; mariela_patrignani@hotmail.com <mariela_patrignani@hotmail.com>; Rubén Arias <iaroa@yahoo.com.ar>; cristiantroyjack@hotmail.com <cristiantroyjack@hotmail.com>; jfelipesales@gmail.com <jfelipesales@gmail.com>; gaccia@agro.unlp.edu.ar <gaccia@agro.unlp.edu.ar>; moe_788@hotmail.com <moe_788@hotmail.com>; astiz.valentina@inta.gob.ar <astiz.valentina@inta.gob.ar>; voruezabal@gmail.com <voruezabal@gmail.com>; Eirin Mariano <eirin@agro.unlp.edu.ar>; eugesuarez78@gmail.com <eugesuarez78@gmail.com>; Marcelo Martinotti <mmartinotti@fca.uncu.edu.ar>; jjcalixto@gmail.com <jjcalixto@gmail.com>

Estimado autor: Les escribimos para informarle que próximamente publicaremos en número 2 del volumen 121 (2022) de la Revista de la Facultad de Agronomía, en la cual está incluido su trabajo aceptado.

Nos comunicamos en esta ocasión para informarles que estamos teniendo cierto nivel de retraso en relación a la carga de los datos en el portal amelica, paso previo a la generación de las pruebas de galera.

Dicha etapa nos excede, pero estimamos tener pronto las pruebas de galera para enviarles y así poder publicar el volumen.

Les pedimos disculpas desde ya por la demora.

Un saludo cordial

Dr. Diego M. Ruiz
Editor Científico Responsable
Dra. María Luz Blandi
Editora Adjunta
Revista de la Facultad de Agronomía
Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
Universidad Nacional de La Plata
Argentina
revagro@agro.unlp.edu.ar
revagrounlp@gmail.com

Re: Seguimiento a manuscrito 4021

Scientia Agropecuaria <sci.agropecu@unitru.edu.pe>

Sáb 12/03/2022 3:26

Para: Juan Delgado <moe_788@hotmail.com>;jdelgado@conacyt.mx <jdelgado@conacyt.mx>

Estimado(a) autor(a),

Luego haber revisado el cumplimiento de todas las exigencias solicitadas por los revisores y editor adjunto, le comunico que su artículo titulado "Extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida" ha sido definitivamente aceptado para su publicación en Scientia Agropecuaria, su artículo será enviado al área de edición para la maquetación respectiva y sería publicado en el siguiente número de la revista.

Finalmente, debido a que su artículo ya fue aprobado para publicación, solicitamos envíe comprobante de depósito por la publicación (250 USD). Este depósito puede realizarlo vía cualquiera de los siguientes mecanismos:

1ra Opción. Vía PayPal. Este es un sistema de pago electrónico de forma segura y rápida. Si acepta esta forma de pago, comuníquenos para generarle orden de pago. Para esta forma de pago es necesario disponer de una tarjeta de crédito.

2da Opción. Giro a través del Sistema Wester Union, en este caso a nombre del Editor-Jefe (Raúl Benito Siche Jara), con el documento de identidad siguiente: 18861575. Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional de Trujillo.

3ra Opción. Transferencia Bancaria, Banco Internacional del Perú SAA (Interbank Perú) (dólares). CCI (IBAN): 003-898-013182559726-46. Swift: BINPPEPL. Dirección del Banco: Av. Mansiche y America Oeste Local B-1253, B-1257. Titular: Raúl Benito Siche Jara.

En espera de su respuesta,

De: Revista Bio Ciencias <biociencias@uan.edu.mx>

Enviado: martes, 21 de febrero de 2023 01:43 p. m.

Para: Henry López López <henry.lopez.l@hotmail.com>

Asunto: Re: seguimiento de documento

Juan Carlos Delgado Ortiz, Henry López López, Mariana Beltrán Beache, Yisa María Ochoa Fuentes, Epifanio Castro del Ángel :

Estimados Autores, aprovechamos la ocasión para saludarle y notificar que una vez que se revisaron las modificaciones y correcciones indicadas por los revisores técnicos (árbitros), el manuscrito titulado ""**Efecto insecticida del extracto metanólico de Argemone mexicana para el control de Bactericera cockerelli (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae)**", está en categoría de ACEPTACIÓN PRELIMINAR en la Revista Bio Ciencias (índice de Revistas CONACyT y Emerging Sources-Web of Science). La ACEPTACIÓN DEFINITIVA de su manuscrito, está en función de la recepción de la versión traducida del mismo, así como de la edición del manuscrito versión inglés/español sobre la plantilla adjunta.

Con el objetivo de elevar la calidad de su manuscrito, sugerimos que la versión en inglés sea revisada por personal especializado. Ustedes pueden enviarlo a cualquier agencia especializada o persona física de su confianza. Con el objetivo de apoyar este proceso la Revista Bio Ciencias, cuenta con personal externo que puede apoyar en este tema, si usted está interesado, puede tener un acercamiento con ellos a través del correo: ce.covantes.traduccion@gmail.com
NOTA IMPORTANTE: Con el objetivo de homogeneizar los manuscritos publicados, es importante que TODAS las SIGLAS y ABREVIATURAS de los artículos sean iguales (en inglés) en la versión inglés y español. Por lo que solicitamos a los autores escribir las siglas de sus manuscritos en español, en IDIOMA INGLÉS. Por ejemplo, "ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO" corresponde a la sigla "DNA", nunca debería decir "ADN". Asimismo, mencionar que los títulos y pies de tablas y figuras debe enviarse en los DOS IDIOMAS. Finalmente, las figuras deben enviarse por separado a 300 dpi sin líneas a su alrededor.

Una vez que Usted remita a esta oficina la **versión aceptada** (idioma original) y **traducción** (recuerde que las tablas y figuras, en su contenido, también deben ser traducidas) **en el formato solicitado** (plantilla Bio Ciencias), se emitirá la ACEPTACIÓN DEFINITIVA de su manuscrito. Las versiones (inglés/español) a publicar deben ser enviadas por Ustedes al correo: biociencias@uan.edu.mx

Sin otro particular, enviamos un saludo.

Dra. Karina J. G. Díaz Resendiz
Universidad Autónoma de Nayarit
Editor en Jefe de la Revista Bio Ciencias (ISSN:2007-3380)
índice de Revistas CONACyT
Web of Science (Emerging Sources)

Journal of Natural Pesticide Research

Fitotoxicidad de extractos de Argemone mexicana y Crotalaria longirostrata sobre la fisiología de plántulas de tomate

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	NaPeRe-D-23-00036
Full Title:	Fitotoxicidad de extractos de Argemone mexicana y Crotalaria longirostrata sobre la fisiología de plántulas de tomate
Article Type:	Full Length Article
Section/Category:	
Keywords:	allelopathy, agronomic variables, arvense, secondary metabolites, alkaloids.
Corresponding Author:	Juan Delgado Antonio Narro Agrarian Autonomous University SALTILLO, COAHUILA MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Antonio Narro Agrarian Autonomous University
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Henry Lopez
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Henry Lopez Mariana Beltran Yisa Ochoa Fuentes Epifanio Castro del Ángel Juan Delgado
Order of Authors Secondary Information:	
Manuscript Region of Origin:	MEXICO
Abstract:	La fitotoxicidad causada por metabolitos secundarios de extractos botánicos es un inconveniente en la agricultura. El propósito del presente estudio fue evaluar los efectos fitotóxicos de extractos metanólicos de Crotalaria longirostrata y Argemone mexicana sobre la germinación y variables fisiológicas de plántulas de tomate. Los resultados indicaron que altas dosis de ambos extractos (Clong500 y Amex500) inhibieron la germinación de semillas de tomate, mientras que su mezcla (Cl50+Am50) promovió la germinación en un 100%. La altura de la planta aumentó con una dosis baja de C. longirostrata (Clong50) en un 15,4% 30 días después del trasplante (dat). El índice de vigor fue mayor a los 30 ddt en Cl50+Am50at 29.5%. Root length increased with the mean dose of A. mexicana (Amex95) throughout the trial (59.7%, 15.1%, and 22.4%). Chlorophyll content increased throughout the trial with Clong500 (65.3%, 22.2%, and 16.8%) and Amex95 (66.1%, 22.6%, and 19.6%). On the other hand, Amex95 had a higher nitrogen content throughout the trial, while Clong500 increased at 10 and 20 dat. Amex95 produced the greatest increase in root dry weight by 731.5% and 209.4% at 10 and 20 dat, while Clong95 was 78.6% at 30 dat. Foliage dry weight increased by 85.7% at 10 dat with Amex95, 20.7% at 20 dat with Amex500, and up to 209.7% in Amex50 at 30 dat. The present investigation reveals the ability of methanolic extracts of C. longirostrata and A. mexicana to stimulate tomato growth at low and medium doses. Though, at high doses, they exhibit allelopathic effects.
Suggested Reviewers:	Anselmo Hernandez National Institute of Forestry Agriculture and Livestock Research hernandez.anselmo1@gmail.com

Introducción

La producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) debido a su alto consumo, requiere una mayor producción. Se cosechó en 2018 un área de 4,762,457 hectáreas a nivel mundial, con una producción de tomate en fresco de 182,256,458 toneladas (FAOSTAT, 2020). En ese mismo año, México se ubicó como el noveno país productor mundial con 3,780,950 toneladas, siendo Sinaloa el principal productor con una superficie cultivada del 22.5% y un volumen de producción de 1,088,252 toneladas (SIAP, 2019). El cultivo de tomate como una hortaliza importante en México, presenta problemas relacionados con plagas y enfermedades bacterianas. En donde algunas especies de psílidos son plagas y vectores relevantes debido al daño que causan al alimentarse del hospedero, sus secreciones salivales que inyectan toxinas y la transmisión de bacterias patógenas (García-Sánchez *et al.*, 2021).

La enfermedad denominada “permanente del tomate” se produce a través de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso), generando amarillamiento de las hojas, disminución del tamaño de la planta, presencia de coloración café oscuro en el tejido vascular de la raíz, aborto de flores; en algunos casos se despliega expresión de brotes de yemas que forman tallos frágiles y con producción de frutos pequeños (Melgoza *et al.*, 2018). Asimismo, se observa un retraso en el desarrollo, una disminución en la capacidad fotosintética, en tubérculos se han observado brotes ahilados y débiles; que muestran un mayor tamaño en las lenticelas, lo que induce un trastorno de los estolones, lesiones color marrón en el anillo vascular, a veces rayado en el tejido medular y necrosis de tejidos internos que generan muerte temprana de la planta (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019; Swisher & Garczynski, 2019).

Se ha descubierto, a partir de la etiología de dicha enfermedad, la asociación de esta bacteria con el insecto *Bactericera cockerelli* (Sulc) como vector (Kiani *et al.*, 2022), debido a que el psílido se encuentra disperso en la mayoría de las zonas agrícolas del país (Cerna Chávez *et al.*, 2021). El control mediante insecticidas sintéticos sobre *B. cockerelli* son los responsables de los mecanismos de resistencia, lo que provoca que el control sea ineficiente debido a las aplicaciones generalizadas o los costos elevados debido al uso irracional como correctivo (Kiani *et al.*, 2022; Rivera *et al.*, 2018). A causa de dicho

inconveniente, el uso benéfico y alternativo de los extractos de plantas como plaguicidas botánicos y como suplemento surge de investigaciones en diversos países y en México (Tembo *et al.*, 2018). En el mundo se conocen aproximadamente 235 familias de plantas que tienen efectos biológicos contra las plagas a través de extractos vegetales que contienen principios activos con propiedades de repelencia, insecticida o antialimentaria (Dougoud *et al.*, 2019). Las especies vegetales tienen la característica de generar una gran cantidad de metabolitos secundarios, los cuales pueden ser obtenidos de diversas partes como las hojas, tallos, raíces, flores o frutos (Guía-García *et al.*, 2021; Martínez-Delgado *et al.*, 2022).

Se ha demostrado que el uso de extracto de aceite de neem al 0.2% en cucurbitáceas ha facilitado el control de ninfas de *B. cockerelli* (González & García, 2012). El empleo de guayaba, *Datura stramonium*, *Piper auritum* y aceite de semillas de *Melia azedarach* han demostrado ser una opción para el manejo del psílido *Diaphorina citri* (Sandoval *et al.*, 2013). El extracto de ajo también presenta un control del psílido *B. trigonica* y la presencia de CaLso en zanahoria (Perera *et al.*, 2016). Esto demuestra que son más seguros que los plaguicidas convencionales en relación con el medio ambiente, debido a que son biodegradables, disminuyendo la residualidad tóxica en los suelos, cultivos y en la salud de las personas (Jiménez-Reyes *et al.*, 2019).

La especie *Crotalaria longirostrata* (Hook. & Arn.), conocida en zonas del sureste del país como chipilín, pertenece a la familia Fabaceae (Mateos-Maces *et al.*, 2020). Se encuentra de manera espontánea en zonas agrícolas, formando parte de la dieta de la población y otros usos medicinales, forrajero, abono y plaguicida (Mascorro *et al.*, 2019). Presenta un efecto positivo contra hongos, bacterias e insectos (Cruz-Rodríguez *et al.*, 2020; Del Prado-Vera *et al.*, 2018). La planta *Argemone mexicana* L. (llamada chicalote), se considera una maleza de hoja ancha perteneciente a la familia Papaveraceae (Chaity *et al.*, 2021). La actividad biológica de esta planta se ha documentado sobre patógenos como virus, hongos, bacterias y protozoos parásitos (Elizondo-Luevano *et al.*, 2020). Existen acciones contra plagas de cultivos agrícolas como *Bemisia tabaci*, *Spodoptera frugiperda*, *Aphis gossypii* y *Tribolium castaneum* (Granados-Echegoyen *et al.*, 2019; Miranda-Arámbula *et al.*, 2021).

Justificación

El control actual de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en el cultivo de tomate se ha centrado en el control de su vector (*Bactericera cockerelli*), mediante la aplicación de insecticidas químicos; sin embargo, con bajas tasas de éxito en la incidencia y severidad de la enfermedad, por lo que no ha sido posible un efecto benéfico directo en la sanidad de la planta. A partir de esto, se plantea como alternativa el uso de extractos vegetales de *Crotalaria longirostrata* y *Argemone mexicana* para desencadenar la inmunidad en la planta y promover una defensa selectiva a partir de sus metabolitos secundarios.

Hipótesis

El empleo de los extractos de *Crotalaria longirostrata* y *Argemone mexicana* presentarán efecto insecticida al vector *Bactericera cockerelli* (Sulc.), así como la reducción en la severidad ocasionada por *Candidatus Liberibacter solanacearum* en plantas de tomate bajo invernadero.

Objetivo general

Estimar el efecto de los extractos *Crotalaria longirostrata* y *Argemone mexicana* en la incidencia y severidad de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* y su vector *Bactericera cockerelli* presentes en el cultivo de tomate bajo invernadero.

Objetivos específicos

1. Determinar los extractos metanólicos de hojas de *Crotalaria longirostrata* y *Argemone mexicana* para identificar los compuestos mayoritarios con capacidad insecticida.
2. Evaluar el efecto insecticida *in vitro* de los extractos de *Crotalaria longirostrata* y *Argemone mexicana* contra *Bactericera cockerelli*.
3. Determinar el efecto fitotóxico de los extractos (*C. longirostrata* y *A. mexicana*) en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero.
4. Determinar la eficiencia de los extractos (*C. longirostrata* y *A. mexicana*) en la incidencia y severidad de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en plantas de tomate bajo condiciones de invernadero.

Revisión de literatura

Cultivo de tomate

Se estima que el consumo en fresco de las hortalizas cultivadas en todo el mundo va en aumento en torno al 4.5 % cada año (Fröhling *et al.*, 2018), y que para el año 2035 la producción de alimentos experimentará un incremento del 69% aproximadamente, derivado a la creciente tasa de la población mundial (Rehman *et al.*, 2019).

Una de las hortalizas que tiene una importante contribución nutricional en la dieta humana es el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), el cultivo de esta hortaliza es mejorado constantemente en los sistemas productivos intensivos (Zhu *et al.*, 2018). Pertenece al género *Solanum* de la familia de las *Solanáceas* (cuadro 1), siendo el género más grande, con mayor importancia económica, origen en Sudamérica y amplia extensión de cultivo en todo el mundo (Tamburino *et al.*, 2020).

Cuadro 1. Taxonomía de tomate Saladette (NCBI, 2021a).

Reino: Viridiplantae

Orden: Solanales

Familia: Solanáceas

Género: *Solanum*

Subgénero: *Solanum* subgen. *Lycopersicon*

Especie: *Solanum lycopersicum* L.

El nombre tomate procede del náhuatl “tomatl”, en México comenzó el proceso de domesticación y diversificación; la primera cita del tomate en el viejo mundo fue por parte del botánico italiano Pietro Andreas Matthioli en 1544 (Blancard, 2011).

Relación económica y social del cultivo de tomate

El fruto de tomate se destina al consumo en fresco, en ensaladas o jugos, para usos culinarios, a la industria (procesado de purés, conservas ya sean pelados o enteros, dulces como mermeladas, saborizantes, algunas salsas picantes) y a la formulación de productos

farmacéuticos que protejan contra el cáncer o cardiovasculares (Kolomiets *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2022). Se le atribuyen estos beneficios principalmente al compuesto bioactivo conocido como licopeno, además de este componente, el tomate contiene otros compuestos como el ácido ascórbico, ácido fenólico, tocoferol β -caroteno, flavonoides, folatos y fibra (Amorati & Valgimigli, 2018).

A partir del aumento de los desarrollos agronómicos y de los programas de investigación, las hortalizas autóctonas como el tomate han demostrado su gran aporte nutricional, pero también social y económico en países en desarrollo (Tabe *et al.*, 2020). Existen pocos casos de éxito en el empleo de un análisis económico y social de la situación actual. En el estudio de caso en Florida (E.E. UU.) establecido por (Asci *et al.*, 2013) se observó que los costos de producción de tomate en invernadero se elevan un 30% más que la producción a campo abierto, pero se compensa con un mayor rendimiento.

En Zacatecas (México), el análisis realizado por (Padilla *et al.*, 2015) en la producción de tomate demostró que la evaluación de costos en una hectárea refleja mejores indicadores como la relación costo-beneficio (B/C) que va desde 1.26 a 1.50 por cada peso invertido, lo que aumenta la tasa interna de retorno y el valor actual neto. Fomentando una sostenibilidad financiera que los técnicos y propietarios de las unidades de producción pueden implementar para establecer estrategias de calidad, ambientales y administrativas (identificar los costos del producto y del ciclo para posteriores siembras).

El valle de Tulancingo, Hidalgo (México), demostró una relación B/C de 1.51 a 2.01 por cada peso invertido para el ciclo 2018-2019, lo que permitió mejorar los rendimientos promedio por hectárea a 304.2 ton, superando el máximo rendimiento obtenido en 2017 con 120.2 ton·ha⁻¹ y el total de costos de producción para este ciclo. Esto permitió posicionar el producto para exportación principalmente a Estados Unidos, lo cual fomentó a los productores a generar empleos en la región y contribuyó a la autosuficiencia alimentaria, que se refleja en la reducción de la marginación y pobreza en las zonas agrícolas (Terrones *et al.*, 2020).

Complicaciones fitosanitarias en el cultivo de tomate

A partir de la década de los 1980, uno de los desafíos que enfrenta el cultivo de hortalizas en México se debe a las plagas y enfermedades que se instalan en los cultivares de tomate, lo que afecta a la sanidad de la planta y la calidad del fruto (Ruiz *et al.*, 2011). El cultivo de tomate presenta dificultades durante su producción debido a la presencia de agentes patógenos que afectan varios órganos, como enfermedades parasitarias y no parasitarias, que pueden ser bacterias, hongos, fitoplasmas, virus, viroides y nematodos (Blancard, 2011; Camarena & De la Torre, 2008; Fonseca *et al.*, 2019).

Las pérdidas representan un riesgo significativo para la producción de un 50 al 100% (Blancard, 2011; Sánchez-Navarro *et al.*, 2019), por lo que la implementación de esquemas de vigilancia y certificación, con el respaldo de procesos de detección y/o diagnóstico, son fundamentales para un manejo eficiente (Llanes *et al.*, 2017). En las zonas sembradas en los diferentes sistemas de producción en el país, también se presenta la proliferación de plagas con importancia económica como los insectos de la orden Hemiptera, los cuales succionan la savia de las hojas, impidiendo el desarrollo de la planta y del fruto (Moreno *et al.*, 2021). El insecto *Bactericera cockerelli* (Sulc) es un psílido descrito por primera vez en Colorado (EE. UU.) por Sulc en 1909; el cual ataca ampliamente la familia de las Solanáceas y transmisor de CaLso (Sumner-Kalkun, Sjölund, *et al.*, 2020).

***Bactericera cockerelli* (Sulc)**

En el género *Bactericera* actualmente se han descrito 160 especies, donde *B. cockerelli* (Sulc) (Cuadro 2) era considerado como una plaga con afinidad al cultivo de la papa por casi 100 años, sin embargo, también se ha evidenciado como una plaga del cultivo de tomate y otras Solanáceas (Prager & Trumble, 2018; Sumner-Kalkun, Sjölund, *et al.*, 2020). Se le conoce como paratrioza, salerillo y, recientemente, psílido, asociado a la condición vegetal denominada “psílido amarillo”; tiene un estilete en el aparato bucal, el cual está desarrollado con dos conductos para aspirar líquidos y expulsar fluidos (picador-chupador) alimentándose del floema de la planta (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019).

Este psílido produce un daño directo con una coloración amarilla en las hojas de tomate, formando entrenudos cortos y un tallo grueso, lo que impide el crecimiento de la planta y la proporción del fruto; o el daño indirecto descubierto recientemente como vector de la bacteria fitopatógena CaLso (Dahan *et al.*, 2021; Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2021).

Cuadro 2. Taxonomía de *Bactericera cockerelli* Sulc. (NCBI, 2021b).

Reino: Metazoos

Filo: Arthropoda

Subclase: Pterygota

Orden: Hemiptera

Familia: Triozidae

Género: *Bactericera*

Especie: *B. cockerelli* (Sulc)

El ciclo de vida es un hemimetabolismo típico, que se inicia de tres a cinco días después de que la hembra se ha apareado, realizando una pre-oviposición de seis a ocho días para depositar los huevecillos en la hoja cerca de los tallos cortos; se incuba durante seis días aproximadamente y se realiza la eclosión de tres a nueve días (Prager & Trumble, 2018). Posteriormente, pasa por cinco estadios ninfales con una duración de 24 a 29 días (primer instar de tres a cuatro días, del segundo al cuarto instar cuatro días y quinto instar tres días), teniendo una vida adulta de 41 días (dependiendo de las condiciones de la planta huésped, temperatura y humedad). Las hembras tienen un periodo de vida más corto de 16 a 28 días en comparación con los machos, que es de 17 a 39 días, donde la hembra puede depositar 500 huevos aproximadamente en un lapso de 21 días, y pueden presentar cada año de cuatro a siete generaciones (Prager & Trumble, 2018; Yang *et al.*, 2013).

Se ha detectado la presencia del psílido en 40 especies de plantas y en un poco más de 20 familias diferentes, la familia Solanaceae debido a la similitud en la temporada de siembra y la presencia de hospedadores como intermediarios en dichos cultivos, fomenta la presencia de *B. cockerelli* (Sumner-Kalkun, Sjölund, *et al.*, 2020). La dinámica de la

población del insecto tiene una variación espacio temporal en función de las condiciones ambientales, lo que a su vez produce diferencias en la fecundidad, supervivencia, oviposición y asentamiento (Djaman *et al.*, 2020). Se ha identificado esto a través de polimorfismos del gen de la subunidad I del citocromo C oxidasa mitocondrial (COI), poblaciones geográficas diferentes denominadas occidental, central, noreste y suroeste (Sumner-Kalkun, Sjölund, *et al.*, 2020). Se ha descubierto recientemente un nuevo haplotipo de *B. cockerelli* denominado México Haplotipo 1 (MXH1), el cual se encontró en la región noreste de México (Beltrán-Beache *et al.*, 2022).

Bacteria delimitada al floema *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso)

En 2008 se descubrió una nueva alfa proteobacteria asociada a *B. cockerelli*, causando la enfermedad denominada el manchado de la papa (Harrison *et al.*, 2019). Esta bacteria pertenece al grupo α Proteobacterias (Cuadro 3), no cultivable de manera *in vitro*, rodeada de una pared gramnegativa (carece de una capa de peptidoglicano en el espacio periplásmico), con forma de bacilo, con dimensiones de 0.25-0.35 μm de ancho y 0.8-1.6 μm de largo aproximadamente (García-Sánchez *et al.*, 2021; Huot *et al.*, 2018).

Cuadro 3. Taxonomía de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (NCBI, 2021c).

Superreino: Bacterias

Filo: Proteobacteria

Clase: Alphaproteobacteria

Orden: Rhizobiales

Familia: Rhizobiaceae

Género: *Candidatus Liberibacter*

Especie: *solanacearum*

Esta bacteria se encuentra en *B. cockerelli* en células específicas llamadas bacteriocitos que se transmiten entre madre a progenie de manera vertical, apoyando al insecto en la síntesis de los aminoácidos y azúcares esenciales a partir de la savia obtenida de la planta (Tang *et al.*, 2020). Se ha documentado la eficiencia del adulto de *B. cockerelli* en la

transmisión de CaLso, ya que la bacteria tiene la capacidad de infectar glándulas salivales, cámara de filtrado, hemolinfa, el intestino medio, tejido muscular y adiposo, así como ovarios (Mendoza *et al.*, 2018). Se han descubierto también variantes de CaLso denominadas haplotipos, lo cual indica la capacidad de esta bacteria de presentar cambios debido a la dispersión geográfica, lo cual genera una amplia gama de hospedadores de plantas y vectores (Swisher & Garczynski, 2019).

Haplotipos de CaLso

El diagnóstico de los haplotipos de CaLso debido a que es una bacteria obligada al vector se ha podido realizar mediante el uso de la Reacción en Cadena de la polimerasa (PCR, siglas en inglés), que permite detectar la bacteria dentro del insecto y plantas infectadas (Crosslin *et al.*, 2011). Las herramientas moleculares han permitido la identificación por análisis de polimorfismo de un solo nucleótido del gen de ARNr 16S, de la región espaciadora interna 16S/23S (ISR) y la expresión de proteínas ribosomal rpIL50S y rpIJ (Tahzima *et al.*, 2014).

Hasta el momento se han descrito los haplotipos (Lso): LsoA, LsoB, LsoC, LsoD, LsoE, LsoF, LsoG, LsoH, LsoU, Cras1 y Cras2 (Albuquerque *et al.*, 2020; Haapalainen *et al.*, 2018, 2020; Katsir *et al.*, 2018; Mauck *et al.*, 2019; Sumner-Kalkun, Highet, *et al.*, 2020). Recientemente se reportan los haplotipos Aph1, Aph2, Aph3, dos variantes de Aph2 (Aph2a y Aph2b) (Grimm *et al.*, 2022). Las variaciones entre los diferentes haplotipos en sus características biológicas, determinan la epidemiología y sus complicaciones en el manejo agrícola (Mustafa *et al.*, 2015). Las plantas de tomate infectadas con el haplotipo B, experimentan síntomas más graves y una mayor mortalidad en comparación con las plantas infectadas con el haplotipo A (Harrison *et al.*, 2022).

Estrategia para el control del patosistema *Bactericera cockerelli* (Sulc.) y *Candidatus Liberibacter solanacearum*

A causa de los cambios que experimentan los insectos y patógenos por el entorno y el manejo agronómico, las pérdidas económicas pueden ser del 60 al 100% debido a la reducción de la producción y calidad del fruto (Cerna Chávez *et al.*, 2021). La estrategia de control se fundamenta en el insecto, debido al complejo insecto-patógeno que se ha

generado en cultivos de Solanáceas, esto se debe a que los ensayos sobre el control de CaLso no son tan eficientes (Albuquerque *et al.*, 2020; Sumner-Kalkun, Highet, *et al.*, 2020).

El control cultural se basa en barreras que impiden la entrada del insecto, tales como el uso de mallas de poro pequeño o trampas pegajosas de color amarillo (Roller Trap) para capturar grandes cantidades de insectos (Vereijssen *et al.*, 2018). El empleo de plásticos de color gris-plata como acolchado en los cultivos han demostrado una disminución de ninfas y adultos (Lozano *et al.*, 2018). Eliminar malezas hospederas alternas del insecto en el interior y fuera del sitio de producción, plantas de cultivos desatendidos o de la cosecha anterior (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019). El control de la temperatura es un factor que permite limitar el desarrollo de huevos y ninfas si son menores a 20 °C o superiores a 32 °C, lo cual afecta directamente las unidades de calor acumuladas para que *B. cockerelli* complete un ciclo de desarrollo (Vargas *et al.*, 2020).

Para el control genético se han diseñado plantas con un germoplasma que detecte y resista la presencia del vector y de CaLso; como por ejemplo las plantas *S. bulbocastanum*, *S. habrochaites* y el híbrido somático de *S. tuberosum* × *S. berthaultii* (Cooper & Bamberg, 2016). También se han reportado líneas endogámicas (RILs) resistentes a *B. cockerelli* que provienen de papa y tomate silvestres (*S. corneliomulleri*, *S. chmielewskii*, *S. huaylasense*, *S. habrochaites*, *S. pennelli* y *S. galapagense*) que retrasan la expresión de CaLso hasta 5 semanas, pero sin reportar el modo de control ejercido (Avila *et al.*, 2019).

El manejo biológico con hongos entomopatógenos ha tenido éxito porque no necesitan ser ingeridos, ya que atacan la cutícula del psílido con enzimas o metabolitos secundarios (Culebro-Ricaldi *et al.*, 2017). Algunos de ellos son *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae* (cepas MA25 y EMA28), *Paecilomyces fumosoroseus* y *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & W. Gams (Ramirez *et al.*, 2008; Villegas *et al.*, 2017). Los insectos entomófagos como *Convergans*, *Chrysoperla carnea*, *Engytatus varians*, *Hippodamia*, *Orius tristicolor*, *Geocoris punctipes* y *Tamarixia triozae*, que se alimentan o desarrollan dentro del vector, producen una considerable disminución en su reproducción (Ail *et al.*, 2018; Ceron *et al.*, 2014; Velazquez, 2019).

El manejo químico es el más utilizado debido a que es de fácil acceso, el efecto es rápido y de resultados aceptables ante el manejo de *B. cockerelli* (Tucuch-Haas *et al.*, 2020). La forma de acción puede ser por contacto a través de la translocación en la planta por el xilema y floema, mediante las hojas y tallos (Vega-Chávez *et al.*, 2020). Los insecticidas sistémicos se emplean para aplicarlos en las semillas, al suelo inmediatamente en la siembra, trasplante o aplicación foliar (Tucuch-Haas *et al.*, 2010). De barrera para aplicaciones completas para que disfracen físicamente a la planta con el cambio espectral ante el insecto (Beltran *et al.*, 2015; Vereijssen *et al.*, 2018). También se ha utilizado estreptomycin (aminoglucósido) y penicilina G como agentes antimicrobianos contra *CaLso* para control en campo (Delgado-Ortiz *et al.*, 2019).

Otra forma de control es el manejo orgánico mediante el uso de extractos vegetales, ya que poseen aplicaciones más prácticas para los sistemas de producción y proporcionan beneficios socioeconómicos para los productores (Tembo *et al.*, 2018). Esto impide el empleo de insecticidas sintéticos que perjudican la diversidad de especies que no son objetivo, así como la toxicidad en los suelos y el ser humano (Altieri & Nicholls, 2020; Gomiero, 2018).

Extractos vegetales como insecticidas

Cada año se descubren unas 2000 especies de plantas con potencial para el control de plagas y enfermedades en los cultivos, se han registrado alrededor de 400,000 especies de plantas con actividad biocida (Nxumalo *et al.*, 2021). Los factores que contribuyen a dicha actividad biocida se atribuyen a los metabolitos secundarios, siendo aproximadamente 54,910 compuestos con actividad ante el estrés biótico y abiótico (Geilfus, 2019). Se ha comprobado que los extractos vegetales son eficaces contra una gran diversidad de plagas (incluyendo insectos chupadores y masticadores), lo cual se debe a los metabolitos secundarios que son los compuestos bioactivos (como alcaloides, terpenoides, fenoles, flavonoides, glucósidos, taninos, entre otros), que pueden afectar el sistema nervioso, la reproducción y el desarrollo del insecto (Tavares *et al.*, 2021).

Las ventajas de utilizar extractos vegetales como insecticidas en la producción agrícola se fundamentan en 1) son de origen natural y, por lo tanto, son menos perjudiciales para los seres humanos y el medio ambiente, y 2) la disponibilidad y accesibilidad de los materiales

vegetales, que se pueden encontrar en las zonas agrícolas; lo cual facilita la reducción de costos asociados al control de plagas y promover la agricultura sostenible (Amoabeng *et al.*, 2019; Lengai *et al.*, 2020).

Los productos derivados de extractos de plantas están ganando terreno en la agricultura orgánica y también se están posicionando en la agricultura convencional como alternativas en la rotación de plaguicidas o mezclas, estas alternativas han demostrado no tener ningún impacto negativo en la eficacia del manejo de plagas ni en el aumento de los costos de producción (Isman, 2020).

***Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.**

El género *Crotalaria* se encuentra en la familia Fabaceae y la encontramos de manera silvestre, con aproximadamente 700 especies. En México, la especie *C. longirostrata* (Hook. & Arn.) llamada tradicionalmente como chepil o chipilín (Mateos-Maces *et al.*, 2020; Roldán-Rueda & Pérez-Volkow, 2022). Se trata de una planta nativa de Centroamérica y México, que se desarrolla de manera silvestre y tiene una importancia en la dieta de las personas de dichas localidades; el uso de sus hojas es para usos medicinales o para la gastronomía local (Salinas-Morales *et al.*, 2022).

Posee una gran cantidad de aminoácidos esenciales, alcanzando concentraciones de hasta 6.7 g por cada 100 g de proteína (Mateos-Maces *et al.*, 2020). Además, cuenta con una concentración significativa de minerales importantes (como calcio, fósforo, hierro, potasio y zinc), junto con vitamina C y propiedades antioxidantes debido a su contenido de compuestos fenólicos y flavonoides (Jiménez & Grusak, 2015). Asimismo, contiene metabolitos secundarios como ácidos orgánicos, flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides de pirrolizidina (Cruz-Rodríguez *et al.*, 2020; Vergun *et al.*, 2020), los cuales presentan actividad biológica sobre plagas y enfermedades agrícolas (López-López *et al.*, 2022; Prada *et al.*, 2020).

***Argemone mexicana* Linn**

La especie *Argemone mexicana* Linn, pertenece a la familia Papaveraceae y conocida como chicalote o amapola mexicana, es nativa de zonas tropicales, es una maleza anual de hojas anchas y ramificadas que alcanzan una altura aproximada de 1.3 metros (Andleeb

et al., 2020). Dentro del género *Argemone* se han registrado un total de 25 especies, siendo *A. mexicana* una de las más comunes, encontrándose ampliamente distribuida en campos abiertos o al borde de las carreteras (Xool-Tamayo *et al.*, 2021).

En nuestro país, *A. mexicana* se utiliza como planta medicinal para tratar diversas enfermedades, como el asma, las úlceras, las infecciones intestinales y el cáncer (Datkhile *et al.*, 2021; Elizondo-Luevano *et al.*, 2020). Igualmente, se ha observado que también presenta actividad biocida contra hongos, bacterias, virus y protozoos parásitos (Elizondo-Luevano *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021). Los compuestos responsables de esta actividad biológica son glucósidos, flavonoides, terpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides de bencilisoquinolina (Martínez-Delgado *et al.*, 2022; More *et al.*, 2017). Específicamente, los alcaloides de bencilisoquinolina poseen propiedades insecticidas y actúan como repelente contra diversos tipos de insectos (Ijaz *et al.*, 2019).

Referencias

- Ail, C. C. E., Cerna, C. E., Landeros, F. J., Ochoa, F. Y., Rodríguez, G. R. E., & Rueda, P. E. O. (2018). Respuesta Funcional de *Chrysoperla carnea* en Ninfas de Estadio Inicial de *Bactericera cockerelli*. *Southwestern Entomologist*, 43(3), 723–731. <https://doi.org/10.3958/059.043.0318>
- Albuquerque, T. F. A., Ibañez, F., Mendoza, A., de Carvalho, N. M., & Tamborindeguy, C. (2020). Effects of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (haplotype B) on *Bactericera cockerelli* fitness and vitellogenesis Angélica. *Insect Sci*, 27(1), 58–68. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.1259>
- Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2020). Agroecology and the reconstruction of a post-COVID-19 agriculture. *Journal of Peasant Studies*, 47, 881–898. <https://doi.org/10.1080/03066150.2020.1782891>
- Amoabeng, B. W., Johnson, A. C., & Gurr, G. M. (2019). Natural enemy enhancement and botanical insecticide source: a review of dual use companion plants. *Applied Entomology and Zoology*, 54(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s13355-018-00602-0>
- Amorati, R., & Valgimigli, L. (2018). Methods to measure the antioxidant activity of phytochemicals and plant extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(13), 3324–3329. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01079>
- Andleeb, S., Alsalmeh, A., Al-Zaqri, N., Warad, I., Alkahtani, J., & Bukhari, S. M. (2020). In-vitro antibacterial and antifungal properties of the organic solvent extract of *Argemone mexicana* L. *Journal of King Saud University - Science*, 32(3), 2053–2058. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.01.044>
- Asci, S., VanSickle, J. J., & Cantliffe, D. (2013). The Potential for Greenhouse Tomato Production Expansion in Florida. *Selected Paper Prepared for Presentation at the Southern Agricultural Economics Association (SAEA) Annual Meeting, Orlando, Florida, February*, 3–5. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.143095>
- Avila, C. A., Marconi, T. G., Vilorio, Z., Kurpis, J., & Del Rio, S. Y. (2019). *Bactericera cockerelli* resistance in the wild tomato *Solanum habrochaites* is polygenic and

influenced by the presence of *Candidatus Liberibacter solanacearum*. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50379-7>

Beltrán, B. M., Cerna, C. E., Delgado, O. J. C., & Ochoa, F. Y. M. (2015). Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* (A. Gray) S. F. Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Investigación y Ciencia*, 23(66), 12–15.

<https://go.gale.com/ps/anonymous?id=GALE%7CA461444768&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=16654412&p=IFME&sw=w>

Beltrán-Beache, M., Delgado-Ortíz, J. C., Ochoa-Fuentes, Y. M., & Cerna Chávez, E. (2022). Variación genética de *Bactericera cockerelli* Šulc. (Hemiptera: Triozidae) sugiere nuevo haplotipo en México. *Revista Colombiana De Entomología*, 48 (2). <https://doi.org/10.25100/socolen.v48i2.11094>

Blancard, D. (2011). *Enfermedades del tomate identificar, conocer, controlar* (Mundi-Prensa, Ed.). <https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=3tSzHjXHHJ4C&oi=fnd&pg=PP1&dq=fitoplasmas+en+tomate&ots=VitSMQk0tt&sig=WlGm5josIoMPXpHm4eD6LDZ8T2g#v=onepage&q=fitoplasmas+en+tomate&f=false>

Camarena, G. G., & De la Torre, A. R. (2008). Fitoplasmas: síntomas y características moleculares. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 14(2), 81–87. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-40182008000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Cerna Chávez, E., Beltrán Beache, M., Ochoa Fuentes, Y. M., Hernández Bautista, O., & Delgado Ortiz, J. C. (2021). *Bactericera cockerelli* vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, morfometría y haplotipos en poblaciones de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 26, 81–94. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i26.2939>

Ceron, G. C., Lomelí, F. J. R., Rodríguez, L. E., & Torres, R. A. (2014). Fecundidad y alimentación de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre el psílido de la papa *Bactericera cockerelli*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(5), 893–899.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000500014&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Chaity, F. R., Rashid, M. A., & Rahman, M. S. (2021). Biological investigations of the whole plant of *Argemone mexicana* (L.). *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(1), 135–138. <https://doi.org/10.3329/dujps.v20i1.54041>
- Cooper, R. W., & Bamberg, J. B. (2016). Variation in Susceptibility to Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae), among *Solanum verrucosum* Germplasm Accessions. *American Journal of Potato Research*, 93(4), 386–391. <https://doi.org/10.1007/s12230-016-9512-x>
- Crosslin, J. M., Lin, H., & Munyaneza, J. E. (2011). Detection of ‘*Candidatus Liberibacter Solanacearum*’ in the Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli* (Sulc), by Conventional and Real-Time PCR. *Southwestern Entomologist*, 36(2), 125–135. <https://doi.org/10.3958/059.036.0202>
- Cruz-Rodríguez, R. I., Cruz, S. A., Ruiz, L. N., Pérez, V. J. I., Esquinca, A. H. A., & Meza, G. R. (2020). Potential Application of *Crotalaria longirostrata* Branch Extract to Reduce the Severity of Disease Caused by *Fusarium*. *Agronomy*, 10, 524. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040524>
- Culebro-Ricaldi, J. M., Ruiz-Valdiviezo, V. M., Rodríguez-Mendiola, M. A., Avila-Miranda, M. E., Gutierrez-Miceli, F. A., Cruz-Rodríguez, R. I., Dendooven, L., & Montes-Molina, J. A. (2017). Antifungal properties of *Beauveria bassiana* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato crop. *Journal of Environmental Biology*, 38, 821–827. <https://doi.org/10.22438/jeb/38/5/MRN-412>
- Dahan, J., Wenninger, E. J., Thornton, M., Corral, C. A. R., Olsen, N., & Karasev, A. V. (2021). Haplotyping the Potato Psyllid (Hemiptera: Triozidae) and the Associated Pathogenic Bacterium “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in Non-crop Alternative Hosts in Southern Idaho. *Environmental Entomology*, 50(2), 382–389. <https://doi.org/10.1093/ee/nvaa179>

- Datkhile, K. D., Patil, S. R., Durgawale, P. P., Patil, M. N., Hinge, D. D., Jagdale, N. J., Deshmukh, V. N., & More, A. L. (2021). Biogenic synthesis of gold nanoparticles using *Argemone mexicana* L. and their cytotoxic and genotoxic effects on human colon cancer cell line (HCT-15). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(9), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00113-y>
- Del Prado-Vera, I. C., Franco-Navarro, F., & Godinez-Vidal, D. (2018). Plant Parasitic Nematodes and Management Strategies of Major Crops in Mexico. In S. S. & C. J. (Eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of North America. Sustainability in Plant and Crop Protection* (pp. 31–68). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99585-4_2
- Delgado-Ortiz, J. C., Beltrán-Beache, M., Cerna-Chávez, E., Aguirre-Urbe, L. A., Landero-Flores, J., Rodríguez-Pagaza, Y., & Ochoa-Fuentes, Y. M. (2019). *Candidatus* Liberibacter solanacearum patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 22, 1–12. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.177>
- Djaman, K., Higgins, C., Begay, S., Koudahe, K., Allen, S., Lombard, K., & O'Neill, M. (2020). Seasonal occurrence of potato psyllid (*Bactericera cockerelli*) and risk of zëra chip pathogen (*Candidatus* Liberibacter solanacearum) in northwestern New Mexico. *Insects*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.3390/insects11010003>
- Dougoud, J., Toepfer, S., Bateman, M., & Jenner, W. H. (2019). Efficacy of homemade botanical insecticides based on traditional knowledge. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 39(37), 1–22. <https://doi.org/10.1007/s13593-019-0583-1>
- Elizondo-Luevano, J. H., Verde-Star, J., González-Horta, A., Castro-Ríos, R., Hernández-García, M. E., & Chávez-Montes, A. (2020). In vitro effect of methanolic extract of *Argemone mexicana* against *Trichomonas vaginalis*. *Korean Journal of Parasitology*, 58(2), 135–145. <https://doi.org/10.3347/kjp.2020.58.2.135>
- FAOSTAT. (2020). <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Fonseca, J. Y., Castañeda, A. E., Escarragas, J. O., & Cubillos, D. D. (2019). Caracterización de enfermedades fitopatógenas en el cultivo de tomate de árbol

- (*Solanum betaceum*) en la finca el reposo en el municipio Fa-catativá, Cundinamarca. *Ciencias Agropecuarias Ucundinamarca*, 5(1), 24–31. <https://doi.org/10.36436/24223484.192>
- Fröhling, A., Rademacher, A., Rumpold, B., Klocke, M., & Schlüter, O. (2018). Screening of microbial communities associated with endive lettuce during postharvest processing on industrial scale. *Heliyon*, 4(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00671>
- García-Sánchez, A. N., Yáñez-Macias, R., Hernández-Flores, J. L., Álvarez-Morales, A., Valenzuela-Soto, J. H., Guerrero-Sanchez, C., & Guerrero-Santos, R. (2021). Exogenous Application of Polycationic Nanobactericide on Tomato Plants Reduces the *Candidatus* Liberibacter. *Plants*, 10(10), 2096. <https://doi.org/10.3390/plants10102096>
- Geilfus, C. M. (2019). Plant Secondary Compounds. In *Controlled Environment Horticulture* (pp. 19–33). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-23197-2_3
- Gomiero, T. (2018). Food quality assessment in organic vs. conventional agricultural produce: Findings and issues. *Applied Soil Ecology*, 123, 714–728. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.10.014>
- González, M. M. B., & García, G. C. (2012). Uso de biorracionales para el control de plagas de hortalizas en el norte de Sinaloa. *Ra Ximhai*, 8, 31–46. <https://doi.org/10.35197/rx.08.03.e2.2012.04.mg>
- Granados-Echegoyen, C. A., Chan-Bacab, M. J., Ortega-Morales, B. O., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., Diego-Nava, F., & Gaylarde, C. (2019). *Argemone mexicana* (Papaverales: Papavaraceae) as an Alternative for Mosquito Control: First Report of Larvicidal Activity of Flower Extract. *Journal of Medical Entomology*, 56(1), 261–267. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy159>
- Grimm, K. D. S., Horton, D. R., Lewis, T. M., Garczynski, S. F., Jensen, A. S., & Charlton, B. A. (2022). Identification of three new ‘*Candidatus* Liberibacter solanacearum’

- haplotypes in four psyllid species (Hemiptera: Psylloidea). *Scientific Reports*, *12*(1), 20618. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24032-9>
- Guía-García, J. L., Charles-Rodríguez, A. V., López-Romero, J. C., Torres-Moreno, H., Genisheva, Z., Robledo-Olivo, A., Reyes-Valdés, M. H., Ramírez-Godina, F., García-Osuna, H. T., & Flores-López, M. L. (2021). Phenolic composition and biological properties of rhus microphylla and myrtillocactus geometrizans fruit extracts. *Plants*, *10*, 1–15. <https://doi.org/10.3390/plants10102010>
- Gutiérrez-Ramírez, J. A., Betancourt-Galindo, R., Aguirre-Uribe, L. A., Cerna-Chávez, E., Sandoval-Rangel, A., Catro-del Ángel, E., Chacón-Hernández, J. C., García-López, J. I., & Hernández-Juárez, A. (2021). Insecticidal Effect of Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles against *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Triozidae) on Tomato *Solanum lycopersicum*. *Agronomy*, *11*(8), 1460. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081460>
- Haapalainen, M., Latvala, S., Wickström, A., Wang, J., Pirhonen, M., & Nissinen, A. I. (2020). A novel haplotype of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ found in Apiaceae and Polygonaceae family plants. *European Journal of Plant Pathology*, *156*(2), 413–423. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01890-0>
- Haapalainen, M., Wang, J., Latvala, S., Lehtonen, M. T., Pirhonen, M., & Nissinen, A. I. (2018). Genetic variation of “*Candidatus liberibacter solanacearum*” haplotype c and identification of a novel haplotype from trioza urticae and stinging nettle. *Phytopathology*, *108*(8), 925–934. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-17-0410-R>
- Harrison, K., Levy, J. G., & Tamborindeguy, C. (2022). Effects of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ haplotypes A and B on tomato gene expression and geotropism. *BMC Plant Biology*, *22*(1), 156. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03505-z>
- Harrison, K., Tamborindeguy, C., Scheuring, D. C., Herrera, M. A., Silva, A., Badillo, V. I. E., Miller, Jr. C., & Levy, G. J. (2019). Differences in Zebra Chip Severity between ‘*Candidatus Liberibacter Solanacearum*’ Haplotypes in Texas. *American Journal of Potato Research*, *96*(1), 86–93. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-9692-7>

- Huot, O. B., Levy, J. G., & Tamborindéguy, C. (2018). Global gene regulation in tomato plant (*Solanum lycopersicum*) responding to vector (*Bactericera cockerelli*) feeding and pathogen ('*Candidatus Liberibacter solanacearum*') infection. *Plant Molecular Biology*, 97(1–2), 57–72. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0724-y>
- Ijaz, M., Ali, Q., Ashraf, S., Kamran, M., & Rehman, A. (2019). Development of future bioformulations for sustainable agriculture. In V. Kumar, R. Prasad, M. Kumar, & D. K. Choudhary (Eds.), *Microbiome in Plant Health and Disease: Challenges and Opportunities* (Springer Nature, pp. 421–446). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_19
- Isman, M. B. (2020). Botanical Insecticides in the Twenty-First Century-Fulfilling Their Promise? *Annual Review of Entomology*, 233–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019>
- Jiménez, A. D. M., & Grusak, M. A. (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4), 357–364. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0512-7>
- Jiménez-Reyes, M. F., Carrasco, H., Olea, A. F., & Silva-Moreno, E. (2019). Natural compounds: a sustainable alternative to the phytopathogens control. *Revista de La Sociedad Química de Chile*, 64(2), 4459–4465. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072019000204459>
- Katsir, L., Zhepu, R., Santos, G. D., Piasezky, A., Jiang, J., Sela, N., Freilich, S., & Bahar, O. (2018). Genome analysis of haplotype D of *Candidatus Liberibacter solanacearum*. *Frontiers in Microbiology*, 9(DEC), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02933>
- Kiani, M., Fu, Z., & Szczepaniec, A. (2022). ddRAD Sequencing Identifies Pesticide Resistance-Related Loci and Reveals New Insights into Genetic Structure of *Bactericera cockerelli* as a Plant Pathogen Vector. *Insects*, 13(3), 1–13. <https://doi.org/10.3390/insectos13030257>

- Kolomiiets, Y. V., Grygoryuk, I. P., Butsenko, L. M., & Kalinichenko, A. V. (2019). Biotechnological control methods against phytopathogenic bacteria in Tomatoes. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2), 3215–3230. https://doi.org/10.15666/aeer/1702_32153230
- Lengai, G. M. W., Muthomi, J. W., & Mbega, E. R. (2020). Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239>
- Li, S., Wu, F., Guan, Z., & Luo, T. (2022). How trade affects the US produce industry the case of fresh tomatoes. *International Food and Agribusiness Management Review*, 25(1), 121–133. <https://doi.org/10.22434/IFAMR2021.0005>
- Llanes, A. Y., Hernández, R. L., & Peña, B. I. (2017). La validación de métodos de diagnóstico como herramienta en los programas de vigilancia y manejo de fitopatógenos. *CitriFrut*, 34(1), 46–54.
- López-López, H., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y. M., Castro-del Ángel, E., Cerna-Chávez, E., & Delgado-Ortiz, J. C. (2022). Extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida. *Scientia Agropecuaria*, 13(1), 71–78. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.007>
- Lozano, G. J., Salas, L. K. Y., Lara, H. A., España, L. M. P., Balleza, C. J., & Hernández, M. C. A. (2018). *Bactericera cockerelli* Sulc. 1909 (Hemiptera: Trioziidae) en doce cultivares de chile en acolchados de color verde y gris- plata, en Morelos, Zacatecas, México. *Entomologia Agrícola*, 5, 419–423. http://www.socmexent.org/entomologia/revista/2018/EA/EA_419-423.pdf
- Martínez-Delgado, A. A., Anda, J. de, León-Morales, J. M., Mateos-Díaz, J. C., Gutiérrez-Mora, A., & Castañeda-Nava, J. J. (2022). *Argemone* species: Potential source of biofuel and high-value biological active compounds. *Environmental Engineering Research*, 27(2), 200619. <https://doi.org/10.4491/eeer.2020.619>
- Mascorro, de L. R. D., Ferguson, B. G., Perales, R. H. R., & Charbonnier, F. (2019). Herbicidas en la milpa: Estrategias de aplicación y su impacto sobre el consumo de

- arvenses. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(18), 477–486. <https://doi.org/10.19136/era.a6n18.2076>
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible leafy plants from México as sources of antioxidant compounds, and their nutritional, nutraceutical and antimicrobial potential: A Review. *Antioxidants*, 9(541), 1–24. <https://doi.org/10.3390/antiox9060541>
- Mauck, K. E., Sun, P., Meduri, V. R. S., & Hansen, A. K. (2019). New *Ca. Liberibacter psyllauros* haplotype resurrected from a 49-year-old specimen of *Solanum umbelliferum*: a native host of the psyllid vector. *Scientific Reports*, 9(1), 9530. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45975-6>
- Melgoza, V. C. M., León, S. C. D. R., López, V. J. Á., Hernández, E. L. A., Velarde, F. S., & Garzón, T. J. A. (2018). Presencia de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en *Bactericera cockerelli* Sulc asociada con enfermedades en tomate, chile y papa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(3), 499–509. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i3.267>
- Mendoza, H. A., Lecy, J., Harrison, K., Yao, J., Ibanez, F., & Tamborindeguy, C. (2018). Infection by *Candidatus Liberibacter solanacearum* haplotypes A and B in *Solanum lycopersicum* “Moneymaker.” *Plant Disease*, 102(10). <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-17-1982-RE>
- Miranda-Arámbula, M., Reyes-Chilpa, R., & Anaya, L. A. L. (2021). Phytotoxic activity of aqueous extracts of ruderal plants and its potential application to tomato crop. *Botanical Sciences*, 99(3), 487–498. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2727>
- More, N. V., Kharat, K. R., & Kharat, A. S. (2017). Berberine from *Argemone mexicana* L exhibits a broadspectrum antibacterial activity. *Acta Biochimica Polonica*, 64(4), 653–660. https://doi.org/10.18388/abp.2017_1621
- Moreno, A., Miranda, M. P., & Fereres, A. (2021). Psyllids as major vectors of plant pathogens. *Entomologia Generalis*, 41(5), 419–438. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2021/1289>

- Mustafa, T., Horton, D. R., Swisher, K. D., Zack, R. S., & Munyaneza, J. E. (2015). Effects of host plant on development and body size of three haplotypes of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Environmental Entomology*, *44*(3), 593–600. <https://doi.org/10.1093/ee/nvv018>
- NCBI. (2021b). *Navegador de taxonomía Bactericera cockerelli*. National Center for Biotechnology Information, Txid290155. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=290155>
- NCBI. (2021a). *Navegador de taxonomía (Solanum lycopersicum)*. National Center for Biotechnology Information, Txid4081. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=4081&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- NCBI. (2021c). *Taxonomy browser (Candidatus Liberibacter solanacearum CLso-ZC1)*. National Center for Biotechnology Information, Txid658172. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=658172&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- Nxumalo, K. A., Aremu, A. O., & Fawole, O. A. (2021). Potentials of medicinal plant extracts as an alternative to synthetic chemicals in postharvest protection and preservation of horticultural crops: A review. *Sustainability*, *13*(11), 1–33. <https://doi.org/10.3390/su13115897>
- Padilla, B. L. E., Lara, H. A., Reyes, R. E., & González, H. J. R. (2015). Assessing environmental management of tomato production under protected agriculture. *International Food and Agribusiness Management Review*, *18*(3), 193–210. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.208501>
- Perera, G. S., Molina, H. J., & Siverio, de la R. F. (2016). Ensayo de eficacia de productos para el control de amarillos en zanahoria. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/otra_604_zanahoria.pdf
- Prada, F., Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2020). LC/MS study of the diversity and distribution of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* species growing in Colombia.

Journal of Separation Science, 43(23), 4322–4337.
<https://doi.org/10.1002/jssc.202000776>

Prager, S. M., & Trumble, J. T. (2018). Psyllids: Biology, Ecology, and Management. In *Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato*. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802441-6.00007-3>

Ramírez, G. M., Santamaria, C. E., Mendez, R. J. S., Rios, F. J. L., Hernandez, S. J. R., & Pedro, M. J. G. (2008). Evaluación de insecticidas alternativos para el control de paratrioza (*Bactericera cockerelli* b.y l.) (Homoptera: Triozidae) en el cultivo de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.). *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 7(1), 47–56. <https://www.redalyc.org/pdf/4555/455545066007.pdf>

Rehman, U. K., Bukhari, S. M., Andleeb, S., Mahmood, A., Erinle, K. O., Naeem, M. M., & Imran, Q. (2019). Ecological risk assessment of heavy metals in vegetables irrigated with groundwater and wastewater: The particular case of Sahiwal district in Pakistan. *Agricultural Water Management*, 226(September), 105816.
<https://doi.org/10.1016/j.agwat.2019.105816>

Rivera, M. R., Ramírez, D. J. F., & Acosta, G. A. D. (2018). Distribución espacial de las poblaciones de huevos de *Bactericera cockerelli* Sulc. en el cultivo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Acta Universitaria*, 28(5), 24–33.
<https://doi.org/10.15174/au.2018.1944>

Roldán-Rueda, H. N., & Pérez-Volkow, L. (2022). Montañas, milpas y platillos de Oaxaca, México: una aproximación al territorio desde la cocina. *Revista Grifos*, 32(59), 01–17. <https://doi.org/10.22295/grifos.v32i59.7035>

Ruiz, N. R. E., Ruiz, N. J. A., Guzmán, G. S., & Pérez, L. E. de J. (2011). Manejo y control de plagas del cultivo de tomate en Cintalapa, Chiapas, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(2), 129–137.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992011000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Salinas-Morales, J. L., Peña-Valdivia, C. B., Trejo, C., Vázquez-Sánchez, M., López-Palacios, C., & Padilla-Chacón, D. (2022). Componentes del rendimiento de

- Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn. en Guerrero, México. *Polibotánica*, 54, 101–121. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.54.7>
- Sánchez-Navarro, J. Á., Corachán, L., Font, I., Alfaro-Fernández, A., & Pallás, V. (2019). Polyvalent detection of twelve viruses and four viroids affecting tomato by using a unique polyprobe. *European Journal of Plant Pathology*, 155(1), 361–368. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01763-6>
- Sandoval, R. F., Agriaga, G. L., Hernández, L. L., Hernández, R. I., & Guzmán, G. F. I. (2013). Actividad biológica en campo del extracto etanólico de *Melia azedarach*, *Psidium guajava*, *Datura stramonium*, *Piper auritum* y *Azadirachta indica* a juss sobre la *Diaphorina citri*. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 9(1), 22–29. https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/13_Sandoval-Reyes_13.pdf
- SIAP. (2019). SIAP. *Panorama Agroalimentario 2019*, 214.
- Singh, Rohit, Chaubey, N., & Mishra, R. K. (2021). Evaluation of Anti-Asthmatic Activity of Ethanolic Extract of *Argemone mexicana* Stems. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 39–44. <https://doi.org/10.36348/sjmps.2021.v07i01.007>
- Sumner-Kalkun, J. C., Highet, F., Arnsdorf, Y. M., Back, E., Carnegie, M., Madden, S., Carboni, S., Billaud, W., Lawrence, Z., & Kenyon, D. (2020). ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ distribution and diversity in Scotland and the characterisation of novel haplotypes from *Craspedolepta* spp. (Psyllidae: Aphalaridae). *Scientific Reports*, 10(1), 16567. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73382-9>
- Sumner-Kalkun, J. C., Sjölund, M. J., Arnsdorf, Y. M., Carnegie, M., Highet, F., Ouvrard, D., Greenslade, A. F. C., Bell, J. R., Sigvald, R., & Kenyon, D. M. (2020). A diagnostic real-time PCR assay for the rapid identification of the tomato-potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Šulc, 1909) and development of a psyllid barcoding database. *PLoS ONE*, 15(3), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230741>

- Swisher, G. K. D., & Garczynski, S. F. (2019). Identification of a New Haplotype of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in *Solanum tuberosum*. *Plant Disease*, *103*(3), 468–474. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-0937-RE>
- Tabé, O. M. P., Molua, E. L., Nzie, J. R. M., & Fuh, G. L. (2020). Production and supply of tomato in Cameroon: Examination of the comparative effect of price and non-price factors. *Scientific African*, *10*, e00574. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00574>
- Tahzima, M. R., Achbani, E. H., Sisher, K. D., Munyaneza, J. E., & De Jonghe, K. (2014). First Report of ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ on Carrot in Africa. *Plant Disease*, *98*(10), 1426. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-17-0419-PDN>
- Tamburino, R., Sannino, L., Cafasso, D., Cantarella, C., Orrù, L., Cardi, T., Cozzolino, S., D’agostino, N., & Scotti, N. (2020). Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Suffered a Severe Cytoplasmic Bottleneck during Domestication: Implications from Chloroplast Genomes. *Plants*, *9*, 1443. <https://doi.org/10.3390/plants9111443>
- Tang, X. T., Longnecker, M., & Tamborindéguy, C. (2020). Acquisition and transmission of two ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ haplotypes by the tomato psyllid *Bactericera cockerelli*. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70795-4>
- Tavares, W. R., Barreto, M. D. C., & Seca, A. M. L. (2021). Aqueous and ethanolic plant extracts as bio-insecticides-establishing a bridge between raw scientific data and practical reality. *Plants*, *10*(5), 12–29. <https://doi.org/10.3390/plants10050920>
- Tembo, Y., Mkindi, A. G., Mkenda, P. A., Mpumi, N., Mwanauta, R., Stevenson, P. C., Ndakidemi, P. A., & Belmain, S. R. (2018). Pesticidal plant extracts improve yield and reduce insect pests on legume crops without harming beneficial arthropods. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1425. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01425>
- Terrones, C. A., Sánchez, T. Y., Robles, F. V. H., & Vargas, S. J. R. (2020). Rentabilidad económica de la producción de jitomate en valle de Tulancingo, Hidalgo, México: 2018-2019. *Revista Mexicana de Agronegocios*, *52*(47), 595–606. <https://doi.org/10.22004/ag.econ.308715>

- Tucuch-Haas, I. J., Silva-Aguayo, G., & Rodríguez-Maciel, C. J. (2020). Oviposition of *Bactericera cockerelli* (sulc) (Hemiptera: Triozidae) on *Capsicum chinense* (jacq) treated with spiromesifen or spirotetramat. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(3), 317–323. <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.3.317>
- Tucuch-Haas, J. I., Rodríguez-Maciel, C. J., Lagunes-Tejeda, Á., Silva-Aguayo, G., Aguilar-Medel, S., Robles-Bermudez, A., & González-Camacho, J. M. (2010). Toxicidad de spiromesifen en los estados biológicos de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Neotropical Entomology*, 39(3), 436–440. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000300019>
- Vargas, M. H., Guzmán, M. M., Acuña, S. J. A., Azuara, D. A., Grifaldo, A. P. F., Luna, C. A., & Lázaro, D. M. O. (2020). Effects of temperature and tomato variety on development stages of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Acta Zoológica Mexicana (N.S.)*, 36(1), 1–10. <https://doi.org/10.21829/azm.2020.3612178>
- Vega-Chávez, J. L., Cerna-Chávez, E., Ochoa-Fuentes, Y. M., Alvarado-Cepeda, Y. A., Mayo-Hernández, J., & Hernández-Bautista, O. (2020). Selectividad de insecticidas con el parasitoide *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae) para el control de *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Nova Scientia*, 12(25), 00030. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i25.2618>
- Velázquez, G. C. J. (2019). Bioecología de *Bactericera cockerelli* Šulc, y métodos de detección, monitoreo y manejo en cultivo de tomate en México. *Phytoma España: La Revista Profesional de Sanidad Vegetal*, 314, 84–89. <https://doi.org/1131-8988>
- Vereijssen, J., Smith, G. R., & Weintraub, P. G. (2018). *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and *Candidatus Liberibacter solanacearum* in potatoes in New Zealand: Biology, transmission, and implications for management. *Journal of Integrated Pest Management*, 9(1), 1–21. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmy007>
- Vergun, O., Shymanska, O., Rakhmetov, D., Grygorieva, O., Ivanišová, E., & Brindza, J. (2020). Parameters of antioxidant activity of *Galega officinalis* L. and *Galega*

orientalis Lam. (Fabaceae Lindl.) plant raw material. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 125–134. <https://doi.org/10.5219/1271>

Villegas, R. F., Díaz, G. O., Casas, F. J. S., Monreal, V. C. T., Tamayo, M. F., & Aguilar, M. S. (2017). Actividad de dos hongos entomopatógenos, identificados molecularmente, sobre *Bactericera cockerelli*. *Revista Colombiana de Entomología*, 43(1), 27–33. <https://doi.org/10.25100/socolen.v43i1.6643>

Xool-Tamayo, J., Tamayo-Ordoñez, Y., Monforte-González, M., Muñoz-Sánchez, J. A., & Vázquez-Flota, F. (2021). Alkaloid Biosynthesis in the Early Stages of the Germination of *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). *Plants*, 10(10), 2226. <https://doi.org/10.3390/plants10102226>

Yang, X. B., Zhang, Y. M., Henne, D. C., & Liu, T. X. (2013). Life tables of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) on tomato under laboratory and field conditions in Southern Texas. *Florida Entomologist*, 96(3), 904–913. <https://doi.org/10.1653/024.096.0326>

Zhu, G., Wang, S., Huang, Z., Zhang, S., Liao, Q., Zhang, C., Lin, T., Qin, M., Peng, M., Yang, C., Cao, X., Han, X., Wang, X., van der Knaap, E., Zhang, Z., Cui, X., Klee, H., Fernie, A. R., Luo, J., & Huang, S. (2018). Rewiring of the Fruit Metabolome in Tomato Breeding. *Cell*, 172(1–2), 249–261.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.12.019>

Artículos

Rev. Fac. Agron., La Plata (2022) Vol 121(2). Potencial Agroecológico de *Crotalaria* spp.:1-16



Potencial agroecológico de *Crotalaria* spp. como extracto vegetal en la agricultura

Agroecological prospects of *Crotalaria* spp. as a vegetable extract in agriculture

Henry López López

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Mariana Beltrán Beache

Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agropecuarias-Departamento de Fitotecnia. Posta Zootécnica, Jesús María, Aguascalientes, México

Yisa María Ochoa Fuentes

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Epifanio Castro del Ángel

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Ernesto Cerna Chávez

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Juan Carlos Delgado Ortiz*

CONACYT-UAAAN Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Revista de la Facultad de Agronomía

Universidad Nacional de La Plata, Argentina

ISSN: 1669-9513

Periodicidad: Semestral

vol. 121, núm. 2, 2022

redaccion.revista@agro.unlp.edu.ar

Recepción: 29 Marzo 2022

Aprobación: 14 Septiembre 2022

URL: <http://portal.amelica.org/amei/journal/23/233665008/>

DOI: <https://doi.org/10.24215/16699513e112>

Autor de correspondencia: idelgado@conacyt.mx



Resumen

Las especies de *Crotalaria* están ampliamente distribuidas en climas tropicales y subtropicales, describiéndose más de 700 especies; de las cuales, la mayoría son consideradas malezas o especies invasoras. El objetivo de esta investigación fue establecer las características distintivas del género *Crotalaria*, diversidad genética, composición fitoquímica y su potencial aplicación en el control de enfermedades y usos en la agricultura. La investigación fue desarrollada a través de un estudio sistemático de artículos científicos consultados en diferentes bases de datos nacionales e internacionales; de los cuales se exploró la información desde aspectos botánicos, su diversidad genética, su actividad biológica y su aplicación como alternativa ecológica en la agricultura. Las plantas de este género presentan una amplia diversidad metabólica de compuestos bioactivos en semillas, raíces, tallos, hojas y flores; a partir de extractos acuosos, etanol, metanol, éter etílico, cloroformo y diclorometano, que muestran efecto directo o indirecto relacionado con actividades anti-diarréicas, antiinflamatorias, cardiodepresores y como hepatoprotectores. También se ha demostrado la eficacia de extractos vegetales en la agricultura como manejo alternativo sobre agentes patógenos como bacterias, hongos, insectos, nematodos, en el control de malezas y su función como fuente de nutrientes.

Palabras clave: fitoquímica, biocida, metabolitos secundarios, malezas

Abstract

The *Crotalaria* species occur widely in tropical and subtropical climates, with more than 700 species described, most of which are considered weeds or invasive species. The objective of this review was to establish the distinctive characteristics of the *Crotalaria* genus, genetic diversity, phytochemical composition and its potential application in the control of diseases and uses in agriculture. The research was developed through a systematic study of scientific articles consulted in different national and international databases; of which the information was explored from botanical aspects, genetic diversity, its biological activity and its application as an ecological alternative in agriculture. The plants of this genus present a wide metabolic diversity of bioactive compounds in seeds, roots, stems, leaves, and flowers; from aqueous extracts, ethanol, methanol, ethyl ether, chloroform, and dichloromethane, which show direct or indirect effects related to anti-diarrheal, anti-inflammatory, cardiodepressor and hepatoprotective activities. Moreover, the efficacy of plant extracts in agriculture has shown their effectiveness as alternative management of pathogens such as bacteria, fungi, insects, nematodes in weed control and their function as a source of nutrients.

Keywords: phytochemistry, biocide, secondary metabolites, weeds

INTRODUCCIÓN

El género *Crotalaria* pertenece a la familia Fabaceae; las 700 especies registradas en este género predominantemente se desarrollan de manera silvestre; el 71% de estas especies se distribuyen en los países de Madagascar, Camerún, Nigeria y Senegal. El resto en territorios con climas tropicales y subtropicales (Argentina, Brasil, Colombia, Estados Unidos, Guatemala, México y Venezuela) (Mosjidís & Wang, 2011; Satya et al., 2016; Prada et al., 2020). Por otro lado, se han observado especies en países como Sri Lanka, Birmania, Pakistán (Wang et al., 2006), Haití (Lynch et al., 2016), la India (Colegate et al., 2012), Australia (Fletcher et al., 2009), Tailandia (Sutjaritjai et al., 2019) y China (Zhang et al., 2017). Se han reportado alrededor de 71 especies distribuidas en los Estados Unidos de Norte América, México, Guatemala, Uruguay, Brasil y Argentina; de las cuales 21 especies se presentan en México y nueve son consideradas endémicas (Salinas-Morales et al., 2022).

Este género es conocido coloquialmente como “caja de cascabel”, “vainas de sonajero” o “frijoles del diablo”, presentando frutos con abundantes semillas, que al secarse generan un sonido parecido a una sonaja o el sonido de una víbora de cascabel (Stegelmeier, 2011). Se ha observado que *Crotalaria* spp. se adaptan en praderas, pendientes y márgenes de bosques, con texturas de suelos arenosos o disturbados, en suelos que han perdido de manera parcial o total sus atributos de productividad o regulación hídrica por efecto de la tala, erosión eólica, inundaciones, expansión urbana, contaminación o por actividades agrícolas (Saboon et al., 2015).

Diferentes especies del género *Crotalaria* presentan una opción como fuente de alimento y como hortaliza alternativa con valor nutricional para la dieta humana (Guerra-Centeno et al., 2016). Se ha demostrado su capacidad como forraje de animales, por mejorar el proceso de fermentación del rumen del ganado a partir de sus gomas y proteínas solubles (Wanapat et al., 2021); como abono verde para uso en suelos ácidos, ya que presenta la capacidad de fijar nitrógeno en suelos con sobre explotación agronómica (Mosjidís & Wang, 2011), como herbicidas e insecticidas en el área agrícola (Castañeda et al., 2017) y en la fitorremediación de suelos por asimilación o disminución mediante procesos biológicos (metabolismo de la planta), físicos (adsorción, filtración, sedimentación y volatilización) y químicos (hidrólisis o reacciones de óxido-reducción y precipitación), de compuestos provenientes de hidrocarburos de petróleo, plaguicidas, surfactantes, metales pesados (cobalto, cobre y cromo) y no metales (arsénico y boro) (Delgadillo-López et al., 2011; Gamage et al., 2020). También se ha usado en la medicina tradicional humana y para animales (Sutjaritjai et al., 2019).

Tomando en cuenta que las plantas del género *Crotalaria* producen diferentes metabolitos tanto primarios como secundarios como respuesta a condiciones abióticas y bióticas; se vuelven un potencial de estudio para su uso en la agricultura (Chavez et al., 2018). Se reportan compuestos fitoquímicos secundarios como alcaloides, esteroides, ácidos fenólicos, flavonoides, triterpenos, taninos y saponinas; diversas fuentes con valor nutricional como aminoácidos, aceites volátiles, carbohidratos, fibra dietética, glucósidos, proteínas, oligosacáridos y minerales (Rovira et al., 2019; Vergun et al., 2020). La función de dichos compuestos se encuentran relacionados de manera potencial como antiinflamatorio, donde en ensayos *in vitro* en ratones han generado estabilización de la membrana de los glóbulos rojos mediante la disminución en la desnaturalización de la albúmina (Govindappa et al., 2011), disminuyendo el dolor articular o los trastornos urinarios por la presencia de crotafuranos y pterocarpanoides (Bulbul et al., 2017). De igual forma un efecto antidiarreico mediante el control de parásitos del género *Plasmodium* (Bello et al., 2017) y como hepatoprotector con el bloqueo de compuestos tóxicos en el hígado de ratones (Al-Snafi, 2016; Miranda-Granados et al., 2018). También se han observado efectos antitumorales en células madre en ensayos *in vitro*, inducido por β -catenina, ciclooxigenasa 2 y ácido elálgico (Devendra et al., 2012; Mateos-Maces et al., 2020; Sinan et al., 2020).

Además, se han presentado compuestos cardiodepresores que minimizan el daño cardiaco en ratones por el compuesto monocrotalina (Buyukakilli et al., 2014) y recientemente actividad nutracéutica con aportes a la dieta humana con proteínas, carbohidratos y fibra dietética (Mateos-Maces et al., 2020). Capacidad antioxidante presentando una buena estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (Suwanchaikasem et al., 2013; Al-Snafi, 2016; Sinan et al., 2020) e hipolipidémico al favorecer la disminución en niveles de colesterol total sérico en ratones (Al-Snafi, 2016). En la sanidad vegetal de cultivos de interés económico, como agente antibacteriano por la inhibición *in vitro* de *Bacillus subtilis*, *Clavibacter michiganensis* sub spp. *michiganensis*, *Novosphingobium oryzae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas* sp., *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* y *X. axanopodis* pv. *malvacearum*; actividad antifúngica por el control *in vitro* de *Alternaria carthami*, *A. helianthi*, *Aspergillus flaviceps*, *A. nidulans*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Colletotrichum capsici*, *Rhizoctonia solani* y *F.*

verticilloides, este último evaluado *in vivo* (Govindappa et al., 2011; Al-Snafi, 2016; Cruz-Rodríguez et al., 2020).

Gomes et al. (2005) observaron actividad insecticida a partir de la ingesta de semillas de *C. pallida* sobre *Alabama argillacea*, *Anthonomus grandis*, *Callosobruchus maculatus*, *Ceratitis capitata*, *Spodoptera frugiperda* y *Zabrotes subfasciatus*; mediante la inhibición del sitio activo de la enzima tripsina, la cual está involucrada en la asimilación de aminoácidos para el crecimiento y supervivencia del insecto.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue establecer las características distintivas del género *Crotalaria*, su diversidad genética, composición fitoquímica y su potencial aplicación en el control de enfermedades y usos en la agricultura. La investigación fue desarrollada a través de un estudio sistemático de artículos científicos consultados en diferentes bases de datos nacionales e internacionales; de los cuales se exploró la información desde aspectos botánicos, diversidad genética, su actividad biológica y su aplicación como alternativa ecológica en la agricultura.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE CROTALARIA SPP.

Son plantas herbáceas del tipo anual o perenne, de porte arbustivo o herbáceo (Guerra-Centeno et al., 2016), se desarrollan regularmente por debajo de los 2,000 m.s.n.m. (Peñaloza & Pelaez, 2008) y temperaturas entre los 16 y 32°C (Rovira et al., 2019). Crecimiento de tallo erecto, base leñosa en algunos casos (Figura 1a), altura desde 0,34 m hasta 2,65 m, coloración verde oscuro y amarillo verdoso (Figura 1b) (Muli et al., 2021), tallos del tipo estriados, glabros, teretes, pubérulos, tomentosos, pilosos y pubescentes. Hojas simples o compuestas trifoliadas o alternas (con folíolos lanceolados, lineares, elípticos, oblongos, oblanceolados, ovadas, linear-oblongos, elíptico-obovados o lanceolados), con bordes del tipo entero, pubescentes o glabros, estípulas (decurrentes, libres, persistentes o caducas) y cara adaxial con o sin puntos glandulares (Figura 1c) (Avendaño, 2011; Kay, 2017) con un promedio de 3 a 34 ramas, área foliar desde 0,606 a 122,51 cm². aproximadamente (Muli et al., 2021). Las inflorescencias pueden ser simples, axilares, terminales, racemosas u opuestas a la hoja (paucifloras, multifloras uni o bifloras) de uno a tres flores (Figura 1d); se pueden presentar o no brácteas en la base del cáliz o sobre el pedicelo, con coloración amarilla en el exterior y rojo en la parte interna (Avendaño, 2011; Thomas et al., 2012; Bussmann et al., 2021). Las flores pueden medir de largo entre 0,2 a 1,5 cm, son zigomorfas, hermafroditas, normalmente de cinco lóbulos largos (glabro o pubescente), corola usualmente amarilla con rayas papilionácea (puede presentarse listas rojas, manchas rojo-violáceas o azul-violácea) (Figura 1e), con tricomas ciliados en el margen de los pétalos, principalmente estambres monadelfos, el tubo se presenta abierto en la parte superior, anteras dimórficas (cinco dorsifijas pequeñas y cinco basifijas grandes), el ovario es multiovulado (estilo curvado o genicular en la base, ya sea glabro o pubescente) (Le Roux & Van Wyk, 2012).

Se presenta una cantidad abundante de semillas, impermeables al agua, testa dura y lisa (Garduza et al., 2020), en forma oblicua, reniforme, estipitadas y se presenta un fruto en forma de legumbre (cilíndrica, linear oblongo-globoso), gradualmente se estrechan en el estípite, aproximadamente 3 a 7 cm de largo y 0,5 a 1,5 cm de ancho, coloración amarillo pálido, rojo anaranjado, grises, mezcla de los colores anteriores y negro al madurar (figura f) (Avendaño, 2011; Bussmann et al., 2021). Las paredes de las frutas en la tribu *Crotalariaeae* se presentan de forma 1) tipo *crotalaria* (capas variadas lignificadas), 2) tipo *Listia* (combinación de células epicarpicas grandes y lignificadas en única capa) y 3) tipo *Calobota* (células lignificadas pequeñas de capas delgadas y múltiples) (Le Roux et al., 2010). Vainas pilosas, peludas, anchas en algunos casos, largas, suaves, delgadas ocasionalmente, lisas, coloración negra o marrón con rayas negras, presentes con una longitud promedio de 0,4 a 6,7 cm, diámetro de 2,28 a 6,83 cm (Muli et al., 2021).

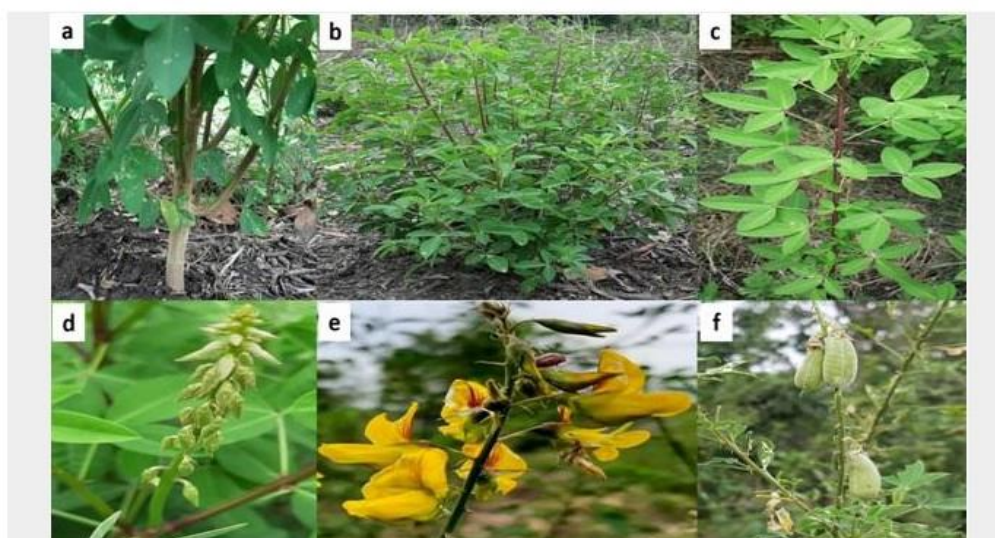


Figura 1

Especie *Crotalaria longirostrata* a tallo erecto b planta completa c hoja compuesta con tres folíolos d inflorescencias racemosas e flores amarillas con rayas papilionáceas y f frutos en forma de legumbre.

Fuente: propia elaborada por Henry López López y colaboradores.

El proceso reproductivo en el género *Crotalaria* normalmente se presenta de manera sexual a partir de semillas generadas en frutos, sin embargo, a pesar del gran número de flores por inflorescencias los frutos formados son bajos por el aborto a los dos días después de la antesis (siendo una estrategia de la planta para generar frutos de buena calidad y puedan acceder a los nutrientes necesarios) (Villalobos & Ramírez, 2010). Además, aprovecha un sistema mixto de apareamiento por xenogamia facultativa mediante el mecanismo de cepillo, consiste en la ruptura espontánea de la antera para exponer el polen y se acumule en la punta del pétalo de la quilla a fin de estar disponible para depositarse en el cuerpo del polinizador (Subramaniam et al., 2013). Las especies de insectos polinizadores que se han observado en plantas como *C. juncea* son del orden Hymenoptera (nueve especies), Lepidoptera (dos especies), Coleoptera (dos especies) y Diptera (una especie), siendo las hembras las más competentes en la recolección de néctar y polen (Rakesh et al., 2019).

ESPECIES MÁS RECONOCIDAS DEL GÉNERO CROTALARIA

En Brasil se describen 31 especies nativas y 11 especies exóticas clasificadas por las características de sus flores (Scupinari et al., 2020). La especie más representativa y reportada es *C. juncea*, una planta tropical llamada cáñamo solar originaria de regiones de África del Sur, India, Sri Lanka y Nepal, de polinización cruzada (Wang et al., 2006), especie diploide anual de crecimiento acelerado. Se destina principalmente para la elaboración de cordeles, cuerdas, redes de pesca, papel moneda y de cigarrillos, así como mejorador de suelo como abono verde (aportando nitrógeno) (Tripathi et al., 2013). Para el uso en la erosión de suelos, control de malezas mediante la competencia de recursos y para el manejo de nematodos como cultivo trampa y barrera física (Zhang et al., 2017). De igual forma como forraje de uso restringido, posible uso como biocombustible (Prasad et al., 2013), usos culinarios y medicinales (para la anemia, psoriasis y depurativo sanguíneo) (Dinakaran et al., 2011).

C. refusa es un arbusto anual, semiperenne con ciclo corto de cinco meses, con origen en África, Asia y Australia; con una altura promedio de un metro, se adapta a diferentes humedades ambientales por lo que es considerada una maleza nociva; presenta polimorfismo somático (De Figueiredo & Silva, 2018); de sabor amargo, astringente (Dhole et al., 2011). También es capaz de realizar simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno; empleada para usos medicinales (como fiebre, antiespasmódico, diarrea), antitumoral, cardiodepresivo; como agente contra insectos herbívoros; pero es tóxico y venenoso para ganado bovino (Ogunsusi et al., 2018). Por otra parte, en países como Nigeria se utilizan para la alimentación de cabras y ovejas (Yashim et al., 2017).

La especie *C. pallida* se desarrolla en regiones de la India y Bangladesh, es anual, erecta de 1,5 m de altura con el tallo fibroso, crecimiento en zonas áridas y semiáridas; las semillas de esta planta se utilizan como alternativa del café. En medicina tradicional es utilizada en personas con problemas de inflamación de articulaciones, trastornos urinarios, antitumoral, antioxidante, antimicrobiano y efecto antinociceptivo (Bulbul et al., 2017). Además, se utiliza como analgésico para uso en seres vivos; como abono en cultivos de *Camellia sinensis*, *Ficus elastica* y *Cocos nucifera*, presentando compuestos como alcaloides, flavonoides, taninos, terpenos, saponinas, compuestos fenólicos y como posible promotor de hidroxiprolina (Ukil et al., 2016; Kamath et al., 2017). Sin embargo, es tóxica para cabras, caballos, cerdos, ovejas, pollos y ratas (Diaz et al., 2014).

C. spectabilis es una especie que se ha encontrado en regiones subtropicales y tropicales, en la India, Asia, Australia, Cuba y Nueva Caledonia; es un arbusto anual erecto; con una tasa alta de producción de semillas (16,327 en promedio); considerada como una maleza; puede encontrarse en suelos erosionados, manglares, principalmente en altitudes de 1,500 m.s.n.m., contenido alto en alcaloides pirrolizidínicos en semillas; teniendo en cuenta que es tóxico para ganado vacuno, cabras, perros, aves y codornices (Rojas-Sandoval, 2016; Kar & Datta, 2018). Es aplicado como abono verde, disminuye la incidencia bacteriana en suelos agrícolas (Deberdt et al., 2014); de forma similar presenta efecto antiinflamatorio, desintoxicación, antioxidante, hepatotoxicidad en humanos y animales (Suwanchaikasem et al., 2013).

La mayoría de las especies de *Crotalaria* presentan características muy similares, por lo que identificar plantas nativas silvestres o semidomesticadas es importante. En México la especie más conocida es *C. longirostrata*, que está catalogada como un quelite, la cual se desarrolla en áreas naturales y en comunidades indígenas del sureste del país (Mateos-Maces et al., 2020). Conocida como chipilín, *C. longirostrata* es nativa de América Central y México, se desarrollan de manera silvestre, de 1,5 m de altura, en suelos arenosos, francos arcillosos, presente hasta 1,960 m.s.n.m. En particular muestra un contenido alto de flavonoides, compuestos fenólicos, minerales (Ca, K, Mg, P, Fe), vitamina B1 y vitamina C y actividad antioxidante (Jiménez & Grusak, 2015; Rovira et al., 2019; Navarro-Flores et al., 2020). Tradicionalmente es utilizada en el arte culinario en la dieta de las personas y las hojas se consumen para tratar la anemia. Se cultiva como hortaliza y abono verde en zonas agrícolas, como forraje para animales y en la elaboración de papel (Arias et al., 2003; Cruz-Rodríguez et al., 2020).

RECURSOS GENÉTICOS DEL GÉNERO CROTALARIA

Los estudios genéticos clásicos son muy escasos en *Crotalaria*, la tipificación de la variación del número de cromosomas fundamentales entre las especies puede contribuir a la explicación de su evolución y disparidad por especiación. La tribu a la que pertenece el género *Crotalaria* es monofilético y cercano a la tribu Genistaeae. *Crotalaria* spp. presenta cromosomas $2n= 16$, en especies americanas subsección *Incanae* se reportan $2n= 32$ (poliploides) y en especies del conjunto *Chrysocalycinae* subsección *Incanae* $2n= 14$ (Mosjidis & Wang, 2011). A partir del análisis del complejo nucleoproteico NOR-heterocromatina, el cariotipo por banda C manifestó dos constricciones secundarias en la región distal del cromosoma 1 y la región proximal del cromosoma 4, confirmándose por el 45S ADNr y el 5S ADNr (hibridación fluorescente *in situ*). Expresando que los tipos de heterocromatina demuestran la existencia de ordenamiento dentro de la familia Fabaceae a partir del ADNr repetido en bloques heterocromáticos al momento de la multiplicidad de especies, por eventos de transposición o la variabilidad en los cruces (Mondin & Aguiar-Perecin, 2011).

La evaluación de la diversidad genética para lograr examinar las relaciones filogenéticas del germoplasma de este género se ha obtenido de información de un marcador de secuencia expresada (EST: Expressed Sequence Tag, por sus siglas en inglés) manejando una repetición de secuencia simple (SSR) codominante, con alto polimorfismo y buena repetibilidad. Sin embargo, requieren mucho tiempo para su desarrollo, poca probabilidad de éxito, con una tasa de clonación positiva relativamente baja y costos altos (Hou et al., 2017). El uso de EST-SSR a partir de accesiones permitieron la identificación de 18 especies de *C. juncea*, cuatro especies de *C. spectabilis*, tres especies de *C. retusa* y dos especies de *C. pallida* por medio de modelos de plantas de *Medicago sativa* y *Glycine max* para legumbres de clima cálido, la funcionalidad de alelos superiores utilizando EST-SSR para determinar los polimorfismos interespecíficos para evaluar la diversidad genética, amplificando 200 pb para especies menores de la familia de las fabáceas en la cual existe muy poca información genómica, donde se reclasificaron dos especies (*C. spectabilis* y *C. juncea*) al grupo de *C. retusa* (Wang et al., 2006).

Mediante estudios filogenéticos de variaciones en las proteínas de semillas se identificaron clados de especies de *C. grahamiana*, *C. pallida*, *C. laburnifolia*, *C. retusa*, *C. beddomeana*, *C. verrucosa*, *C. paniculata*, y *C. juncea*, empleando el método de análisis de distancias genéticas de Nei's. El cual

revelo los patrones de diferentes proteínas de lectina para generar el intervalo de subespecies de *Crotalaria*, obteniéndose dendrogramas de similitudes genéticas entre individuos y análisis de componentes principales para la individualización morfológica de cada especie, demostrando que las similitudes son bajas y la heterocigosidad en el locus expresa poca asociación con subespecies conocidas (Raj et al., 2011).

La identificación de la especie *C. spectabilis* utilizando patrones estándar de *Crotalaria* spp. mediante la restricción de la enzima Ddel a partir de la reacción en cadena de la polimerasa y fragmentos de restricción de longitud polimorfa (PCR-RFLP) con los cebadores matK-465F y matK-1483R. Se logró una amplificación de 1 kb aproximadamente con el gen *matK* del cloroplasto obteniendo fragmentos de 230 pb y 807 pb, que facilitaron la diferenciación en los sitios variables (Suwanchaikasem et al., 2013).

De igual forma, se utilizó la técnica de código de barras con la finalidad de identificar especies destinando fragmentos cortos y estandarizados del genoma, combinando con un análisis de fusión de alta resolución (Bar-HRM) lo que generó una tipificación de los cambios de base única o diferencias determinadas para la identificación taxonómica de especies de una región corta del ADN (Sun et al., 2016). La identificación por esta técnica fue propuesta para la planta *C. spectabilis* a partir de las secuencias de dos regiones de plastidios locus *trnL*, donde se observó una adecuada identificación de la especie cuando se concibió una longitud aparente de 300 pb o menos, siendo un método rápido y sensible para diferenciar entre especies, de bajo costo y cuando se cuenta con datos limitados de regiones del ADN (Singtonat & Osathanunkul, 2015).

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE CROTALARIA

El contenido nutrimental de hojas de *C. longirostrata*, reportó que por cada 100 gramos de peso fresco aportan 56 calorías, 9,1 g de carbohidratos, 0,8 g de grasa, 7 g de proteína y 2 g de fibra (Guerra-Centeno et al., 2016). En un gramo de muestra fresca contiene el 86,8% de agua, vitamina C (1,0-2,48 mg.g⁻¹), fenoles (2,68-3,38 mg.g⁻¹), flavonoides (115,73-178,88 µg.g⁻¹ equivalentes de catequina) y actividad antioxidante (52,16-60,47 µmol.g⁻¹ equivalentes de Trolox) (Jiménez & Grusak, 2015). En hojas secas se reporta un 2,1% extracto etéreo, 8,2% fibra cruda, 51,7% proteína cruda, 7,9% ceniza y 30% de extracto libre de nitrógeno (Guerra-Centeno et al., 2016). En cuanto a las fracciones de fibra presente en hojas de *C. longirostrata* se identificó el 11,1% de celulosa, 8,9% de hemicelulosa y el 35,3% de digestibilidad *in vitro* de materia seca (Arias et al., 2003). Además, el contenido de minerales en un gramo de muestra fresca de *C. longirostrata* presenta azufre (0,15-1,02 µg.g⁻¹), boro (0,47-0,88 µg.g⁻¹), calcio (0,82-2,18 mg.g⁻¹), cobalto (0,01-0,02 µg.g⁻¹), fósforo (0,27-0,61 mg.g⁻¹), hierro (5,69-13,38 µg.g⁻¹), potasio (1,61-2,94 mg.g⁻¹), magnesio (0,61-1 mg.g⁻¹), manganeso (4,11-8,15 µg.g⁻¹), níquel (0,10-0,19 µg.g⁻¹), sodio (0,56-1,50 µg.g⁻¹) y zinc (4,06-7,21 µg.g⁻¹) (Jiménez & Grusak, 2015). Finalmente, se descubrió que *C. longirostrata* proporciona aminoácidos esenciales en concentraciones de 1,7 a 6,7 g por cada 100 g de proteína, siendo la arginina, isoleucina, histidina, lisina, leucina, treonina y valina los principales (Mateos-Maces et al., 2020).

FITOQUÍMICA DE CROTALARIA SPP

En especies del género *Crotalaria* se ha documentado la presencia de metabolitos secundarios en semillas, raíces, tallos, hojas y flores (Prada et al., 2020). A través de estas estructuras químicas se desempeñan funciones ecofisiológicas que generan una defensa ante los factores ambientales (bióticos y abióticos). Funcionando dichos metabolitos secundarios en la planta de manera acumulativa y sinérgica para generar una actividad como repelentes, herbicidas, inhibidores de herbívoros, antivirales, antifúngicos y antimicrobianos. Por lo que su uso en la agricultura se plantea como bioplaguicidas (Geilfus, 2019).

Los metabolitos secundarios descritos actualmente de diferentes familias de plantas se han agrupado según su composición, alrededor de 5,710 estructuras con nitrógeno (alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminos, amidas, glúcidos cianogénicos, glucosinolatos, lectinas y péptidos antimicrobianos), 22,800 sin nitrógeno (antocianinas, cumarinas, diterpenos, esteroides, fenoles, flavonoides, fenilpropanoides, terpenos, triterpenos, tetraterpenos, monoterenos, sesquiterpenos, saponinas, lignanos, taninos, policétidos y antraquinonas) y de diferente composición 2,100 (ácidos orgánicos, carbohidratos y poliactilenos) (Geilfus, 2019). A continuación, se observa en la Tabla 1 un registro de los metabolitos secundarios presentes en el género *Crotalaria* spp; sin considerar el solvente de extracción de los mismos.

Derivado de varios análisis fitoquímicos a partir de la extracción con metanol se reportan en *Crotalaria* spp. la presencia de flavonoides hasta un 12,45 mg.g⁻¹ de hoja equivalentes a rutina (Zhang et al., 2017; Sinan et al., 2020; Sut et al., 2020). Se ha observado la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC), capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de extractos generados de diferentes especies de *Crotalaria* (Mateos-Maces et al., 2020). Algo similar resultó del extracto metanólico de *C. retusa* donde se obtuvieron alcaloides, los cuales fueron aplicados en hojas de *Phaseolus vulgaris*, desencadenando una mayor actividad antioxidante de las enzimas catalasa y superóxido dismutasa, mayor presencia de ácido ascórbico, glutatión reducido y la prolina (Ogunsusi et al., 2018). En otro ensayo sobre *C. retusa*, el contenido fitoquímico del extracto metanólico presentó 32 compuestos con el potencial para la elaboración de bioproductos farmacéuticos (tratamiento para la diabetes tipo II, enfermedad de Alzheimer y dermatológicos) y en la agricultura (actividad biocida) (Sut et al., 2020).

ACTIVIDAD BIOCIDA

Plantas del género *Crotalaria* exhiben compuestos con actividad contra insectos, bacterias, hongos y nematodos (Vergun et al., 2020). La obtención de extractos de hojas, flores, ramas maduras y raíces de la planta pueden incluir una amplia gama de metabolitos que desplieguen un control de organismos nocivos para el ser humano o de plantas (Oliveira et al., 2020).

El análisis fitoquímico de los extractos acuosos y etanólicos de *C. retusa* manifestaron la presencia de alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas y taninos, dichos compuestos presentaron actividad antimicrobiana a una concentración de 750 µg.mL⁻¹ en *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Aspergillus niger*, inhibiendo el 13%, 25% y 9% respectivamente (Dhole et al., 2011). En el estudio *in vivo* del cultivo de tomate Roma para el control de *Ralstonia solanacearum*, fue establecido previamente la especie *C. spectabilis* como cultivo, al terminar su ciclo se estableció el siembra de tomate lo que manifestó un saneamiento del suelo, una mejora en el rendimiento del fruto de tomate y menor incidencia de la bacteria del 64% a los 28 días después del trasplante (Deberdt et al., 2014). De igual forma el ensayo a partir de aceite obtenido de hojas de *C. pallida* presento abundancia de los ácidos grasos linoleico, linolénico y oleico, manifestando actividad bactericida sobre *Acinetobacter junii*, *B. subtilis* y *E. coli*, en concentraciones de 10 µg.mL⁻¹, 80 µg.mL⁻¹ y 10 µg.mL⁻¹ respectivamente (Ukil et al., 2016).

El análisis fitoquímico de hojas de la planta *C. longirostrata* a partir de un extracto acuoso, presentó actividad fungistática en un lapso de 96 h sobre *Fusarium* sp. con 31%, *F. solani* 21%, *F. oxysporum* del 27%, para la fracción procedente de éter etílico presentó únicamente actividad antibacteriana sobre *S. epidermidis* logrando un control del 27% (Miranda-Granados et al., 2018).

También se ha observado actividad antifúngica del género *Crotalaria* a partir de extractos que han demostrado inhibición del crecimiento micelial e inhibición de la esporulación; en el estudio de *C. longirostrata* a partir del extracto metanólico de tallos generó un 64% del crecimiento micelial y 66% de inhibición de la esporulación sobre *Fusarium* sp., el extracto metanólico de las raíces un 71% del crecimiento micelial e inhibición de la esporulación para *F. verticillioides* y los extractos metanólicos de tallos, ramas y raíces inhibieron en un 90% del crecimiento micelial e inhibición de la esporulación sobre el hongo *A. flavus*. El análisis fitoquímico demostró la presencia de compuestos flavonoides, isoflavonoides, alcaloides, triterpenoides, fenilpropanoides, antraquinonas, cumarina, glucósidos cianogénicos y proteasas inhibitorias que podrían ser los responsables de dicha actividad biocida (Cruz-Rodríguez et al., 2017). De lo anterior resultó un ensayo *in vivo* para el control de *Fusarium verticillioides* en el cultivo de *Zea mays*, mediante el manejo del extracto crudo de ramas de *C. longirostrata*. Obteniéndose una disminución en la severidad en un 30% y la incidencia un 11%. Igualmente se reporta la identificación y cuantificación de los metabolitos secundarios con mayor abundancia como compuestos fenólicos (ácido gálico), ácidos cinámicos (ácido cafeico) y el alcaloide pirrolizidínico monocrotalina; posibles responsables de la acción fungistática (Cruz-Rodríguez et al., 2020).

Existen reportes sobre el control de juveniles de *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*, a través de extractos acuosos, pulverizados y como cultivos de cobertura; plantas de *C. atropurpurea*, *C. lathyroides* y *C. grantiana*; de lo anterior resulta la disminución en la persistencia del nematodo desde un 50%, 70% y 38% respectivamente (Rodríguez et al., 2007). Se ha demostrado también el control de *Meloidogyne* sp. utilizando a *Crotalaria* sp. como cobertura en el suelo en invernadero para el cultivo de *Solanum quitoense*, generando un efecto nematostático del 15%, mediante los compuestos alelopáticos y volátiles producidos por *Crotalaria* sp. (Betancourth et al., 2011). Para el control de *Radopholus similis* en el cultivo de *Musa acuminata* Colla c.v. Grande Naine con la siembra de *C. spectabilis* como cultivo intercalado, lo que generó un aumento del 19% del peso fresco de la raíz y disminuyó la presencia de estados juveniles del nematodo en un 49%, en hembras un 51% y

machos el 7%. Este efecto se asocia a la presencia de alcaloides que produce *C. spectabilis*, desencadenando una respuesta sistémica inducida en las raíces de *Musa acuminata*, también se obtuvo información de la simbiosis con hongos micorrízicos que ejercen una actividad nematostática (Anene & Declerck, 2016).

El compuesto usaramina presente en semillas de *C. pallida* demuestra actividad biológica contra *Drosophila melanogaster*, presente en el extracto de diclorometano con una CL_{50} de 156,47 ppm en larvas y 7,95 ppm en pupas (Peñaloza & Peláez, 2014). A partir de semillas de *C. juncea* se obtuvo un extracto de éter de petróleo que contenía el metabolito estigmasterol el cual tiene efecto insecticida en pupas de *D. melanogaster* bajo condiciones *in vitro*; del cual se obtuvo una disminución del 42% y una CL_{50} de 178,8 ppm (Peñaloza & Peláez, 2017).

Recientemente, se reportó que el extracto metanólico de *C. longirostrata* presentó la capacidad de generar mortalidad de un 90,2% en ninfas del 4to instar de *Bactericera cockerelli* (Sulc.), con una CL_{50} de 4,78 $mg \cdot mL^{-1}$ en concentraciones de 16 $mg \cdot mL^{-1}$ a las 48 h. Atribuyéndose el efecto insecticida al compuesto 1β , 2β -Epoxi- 1α -metoximetil- 8α -pirrolizidina (un alcaloide de pirrolizidina), identificado por primera vez en esta especie; podría estar afectando las membranas celulares de los insectos, las conexiones neuronales y el tracto gastrointestinal (López-López et al., 2022).

USOS ALTERNATIVOS

Parte de los usos establecidos para *Crotalaria* es la fitorremediación de suelos mediante el manejo de herbicidas como el diclosulam (triazolopirimidinas). Bajo condiciones experimentales en invernadero se cultivaron plantas de *C. ensiformis*, *C. breviflora* y *C. juncea*, donde se observó a los 45 días después de la siembra una disminución en la concentración del herbicida del 10%, 98% y 47% respectivamente (Monquero et al., 2013). Se ha evaluado la reducción de los niveles de la contaminación de aceites lubricantes de uso cercano a zonas agrícolas mediante cultivos trampa con *C. retusa*, presentando a los 90 días después de la germinación una acumulación de biomasa del 2%, un desarrollo positivo de la rizosfera cercana al tallo y sin cambios negativos en los parámetros agronómicos de *C. retusa* (longitud de la raíz, longitud del tallo, altura de los brotes, nódulos radiculares, biomasa seca de raíz y tallo) (Gamage et al., 2020).

A través de experimentos realizados en invernadero en *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris*, se ha podido establecer la capacidad de *C. juncea* en el aumento en la disponibilidad de carbono en un 80% y mineralización de nitrógeno en un 85%, a los 112 días después de la incorporación en el sustrato (Lynch et al., 2016). El empleo de *C. juncea* ha demostrado su aporte como abono verde cuando se manipula triturado y como complemento con la fertilización inorgánica en *Zea mays*, aumentando el rendimiento hasta un 17% (Subaedah et al., 2016). De igual manera se reporta una mejora en el manejo de pasto forrajero *Brachiaria brizantha* cv. Piatá incorporando al suelo como rastrojo partes de la planta *C. spectabilis*, dando un incremento del 15% en nitrógeno y 47% de materia orgánica (Chavez et al., 2018).

En el cultivo de *Solanum lycopersicum* variedad Río Grande se manejó hojas de *C. retusa* en polvo, lo que generó un aumento en la biomasa de la raíz en un 45% y el extracto de acetato de etilo aplicado de manera foliar incrementó el diámetro del tallo en 11%, mientras que los parámetros de tasa de aborto de flores, número de flores por racimo, número de racimos por planta, biomasa de hojas, frutos y de tallo se mantuvieron (Schinzoumka et al., 2016).

El empleo de *C. longirostrata* para usarse como hortaliza de consumo alternativo para humanos, demostró la capacidad de reducir el uso de nitrógeno inorgánico en la nutrición del ciclo de cultivo hasta un 80 $Kg \cdot ha^{-1}$, actividad simbiótica con la rizobacteria *Rhizobium leguminosarum* biovar logrando incrementar el peso fresco total del cultivo en 158 $Kg \cdot ha^{-1}$, así mismo, se logró un aumento en la producción total de 800 $Kg \cdot ha^{-1}$ (Camarillo & Mangan, 2020).

El control de malezas *Amaranthus hybridus*, *Senna obtusifolia* y *Lolium multiflorum* tratando con residuos secos y molidos de *C. juncea* para aprovechar el efecto de los compuestos químicos alelopáticos (fenoles, flavonoides, alcaloides y taninos) mediante el ensayo *in vivo* durante 65 días después de la germinación, obteniendo una disminución en la germinación en todas las malezas hasta por 14 días y una disminución del 44% en el desarrollo (Skinner et al., 2012).

La evaluación del potencial de las hojas de chipilín como fuente proteica en tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) se expresó positivamente en el aporte al peso y talla, incluyendo en la formulación de la dieta un 20 y 40% de la biomasa de hojas frescas por un periodo de 30 días, sin observar efectos negativos en la supervivencia de los peces, pero si se suministran concentraciones de 60 a 80% induce pérdida de peso (Guerra-Centeno et al., 2016).

Las especies *C. spectabilis*, *C. pallida* y *C. retusa* se han utilizado para obtener fibra, cultivos protectores del suelo y controlar malezas (Pandey et al., 2010). Otras especies tolerantes a sequía

empleadas como ornamentales y plantas medicinales para humanos son *C. nana* Burm f., *C. laburnifolia* y *C. verrucosa* (Satya et al., 2016).

CONCLUSIÓN

Los metabolitos secundarios identificados en *Crotalaria* spp. (Tabla 1) y las investigaciones publicadas reflejan una falta de conocimiento en la aplicación para el control de plagas y enfermedades implementados a través de extractos vegetales. Sin embargo, existe un interés creciente por la posible inducción de resistencia en diversas rutas metabólicas, lo que se traduce en una reducción de los costos energéticos para las plantas en las que se aplican. Ocasionalmente respuestas defensivas rápidas, orientadas espacial y temporalmente; también puede cumplir con los requisitos de seguridad ambiental, toxicológica, condiciones fáciles de usar para su producción y uso en áreas agrícolas de una manera económicamente justificada (Delgado-Oramas et al., 2020). Estos enfoques de baja tecnología para obtener extractos de plantas demuestran funciones similares a los pesticidas sintéticos; reduciendo las poblaciones de plagas y las infestaciones de cultivos, al tiempo que aumentan los rendimientos, disminuyen los riesgos para la salud humana y los organismos benéficos.

Esta revisión muestra evidencias de las especies más estudiadas del género *Crotalaria*, las cuales representan una opción eficaz para adquirir metabolitos secundarios, obtenidos de polvos y extractos vegetales (en disolventes como agua, acetona, etanol, éter etílico, hexano, cloroformo, diclorometano y metanol). Como resultado, se han identificado alcaloides pirrolizidínicos con mayor abundancia, seguido de flavonoides, ácidos grasos, compuestos fenólicos, ésteres, ácidos orgánicos, ácidos cinámicos, esteroides, glúcidos y terpenos, que proporcionan una buena actividad ante los principales organismos fitopatógenos. Esto podría deberse al mecanismo de acción complejo y sinérgico cuando interactúan sus múltiples metabolitos en una actividad biocida sobre bacterias, insectos, hongos y nematodos. Algunos estudios demuestran su actividad para absorber, tolerar, acumular y degradar compuestos contaminantes en suelos agrícolas; el uso como abono verde principalmente como fuente de nitrógeno en diversos cultivos; en menor actividad para el control de malezas y como fuente proteica de animales. Finalmente, el potencial del género *Crotalaria* para usos agrícolas es prometedor, ya que pueden añadirse en los programas de manejo integrado de plagas.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización del Posgrado a Henry López López y al Proyecto 1048 del programa Cátedras CONACyT.

REFERENCIAS

- Al-Snafi, A.E.** (2016). The contents and pharmacology of *Crotalaria juncea*-A review. *IOSR Journal Of Pharmacy* 6(6): 77–86.
- Anene, A. & S. Declerck** (2016). Combination of *Crotalaria spectabilis* with *Rhizophagus irregularis* MUCL41833 decreases the impact of *Radopholus similis* in banana. *Applied Soil Ecology* 106: 11–17.
- Arias, L.; J. Cortes; A. Grande; J. Losada; H. Rendon; J. Rivera; R. Soriano & D. Vieyra** (2003). Evaluación de Chipilín (*Crotalaria longirostrata*) como recurso forrajero para la alimentación de rumiantes en las zonas tropicales de México. *Investigación Ganadera para el Desarrollo Rural* 15(4). Disponible en <https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd15/4/aria154.htm>. Último acceso: octubre de 2021.
- Avendaño, N.** (2011). Revisión taxonómica del Género *Crotalaria* L. (Fabaceae-Crotalarieae) en Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 34(1): 13–78.
- Bello, O.M.; Z. Ali; P.S. Fasinu; I.A. Khan; S.I. Khan; A.A. Zaki; O.S. Oguntoye & L.A. Usman** (2017). Assessment of selected medicinal plants indigenous to West Africa for antiprotozoal activity. *South African Journal of Botany* 113: 200–211.
- Betancourth, G.C.; M. Rodríguez & G.C. Salazar** (2011). Evaluación de coberturas de suelo con caléndula (*Calendula officinalis* L.), *Crotalaria* (*Crotalaria* sp. L.) y avena (*Avena* sp. L.) En el control de *Meloidogyne* Spp. En lulo (*Solanum quitoense* Lam.). *Revista de Ciencias Agrícolas* 28(2): 43–57.

- Bulbul, I.J.; S.B. Fashiuddin; M.R. Haque; M.A. Rashid & M.Z. Sultan** (2017). Anti-nociceptive and Anti-inflammatory Activities of *Crotalaria pallida* Aiton (Fam: Fabaceae) Leaves. *Bangladesh Pharmaceutical Journal* 20(2): 165–171.
- Bussmann, R. W.; G. N. Njoroge & N.Y. Paniagua-zambrana** (2021). *Crotalaria agatiflora* Schweinf. *Crotalaria fascicularis* Polhill *Crotalaria incana* L. *Crotalaria natalitia* Meisn. Fabaceae. En Bussmann R.W. (eds) *Ethnobotany of the Mountain Regions of Africa. Ethnobotany of Mountain Regions*. Springer, Cham. pp. 351–356.
- Buyukakilli, B.; D. Citirik; S. Gurgul; O. Hallioglu; M. Ozeren & B. Tasdelen** (2014). Determination of the effects of pulmonary arterial hypertension and therapy on the cardiovascular system of rats by impedance cardiography. *Croatian Medical Journal* 55(5): 498–506.
- Camarillo, C.F. & F.X. Mangan** (2020). Biological nitrogen fixation in chipilin (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.), a sustainable nitrogen source for commercial production. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 26(2): 125–141.
- Castañeda, R.; É. Carrillo; H. Gutiérrez & A. Sotelo** (2017). Leguminosas (Fabaceae) silvestres de uso medicinal del distrito de Lircay, provincia de Angaraes (Huancavelica, Perú). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 16(2): 136–149.
- Chavez, G.E. de J.; R.P. Brenes & C.W. Peña** (2018). Aporte de materia orgánica de *Crotalaria spectabilis* Roth, en un suelo sembrado con *Brachiaria brizantha* cv. BRS piatá. *Repertorio Científico* 21(1): 1–8.
- Colegate, S.M.; J.M. Betz; D.R. Gardner; R.J. Joy & K.E. Panter** (2012). Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn Hemp cv. 'Tropic Sun'). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(14): 3541–3550.
- Cruz-Rodríguez, R.I.; S.A. Cruz; A.H.A. Esquinca; G.R. Meza; V.J.I. Pérez & L.N. Ruiz** (2020). Potential Application of *Crotalaria longirostrata* Branch Extract to Reduce the Severity of Disease Caused by *Fusarium*. *Agronomy* 10: 524.
- Cruz-Rodríguez, R.I.; C.C. Arias; M.M.E. Ávila; T.T.R. Ayora; R.M. Culebro; M.F.A. Gutiérrez; M.N.A. Mancilla; G.R. Meza; M.M.A. Rodríguez & V.V.M. Ruiz** (2017). Antifungal activity of *Crotalaria longirostrata* Hook & Arn. extracts against phytopathogen fungi from maize. *Gayana Botanica* 74(1): 167–175.
- De Figueiredo, P. S. & L.N.M. Silva** (2018). Somatic Polymorphism Variation in *Crotalaria retusa* L. Seeds. *American Journal of Plant Sciences* 09(01): 46–59.
- Deberdt, P.; R. Coranson-Beaudu; P. Fernandes; E. Gozé; P. Lucas; B. Perrin & A. Ratnadass** (2014). *Crotalaria spectabilis* and *Raphanus sativus* as previous crops show promise for the control of bacterial wilt of tomato without reducing bacterial populations. *Journal of Phytopathology* 163(5): 377–385.
- Delgado-Oramas, B.P.; M.I. González; H.M.G. Rodríguez & P.O. Pino** (2020). La resistencia inducida por productos derivados de plantas: alternativa para el manejo de plagas agrícolas. *Revista de Protección Vegetal*, 35(3); 1–12.
- Delgadillo-López, A.E.; O. Acevedo-Sandova; C.A. González-Ramírez; F. Prieto-García & J.R. Villagómez-Ibarra** (2011). Phytoremediation: An alternative to eliminate pollution. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14(2): 597–612.
- Devendra, B.N.; K. S. Solmon & N. Srinivas** (2012). A comparative pharmacological and phytochemical analysis of *in vivo* & *in vitro* propagated *Crotalaria* species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 5(1): 37–41.
- Dhole, J. A.; S.S. Bodke; N.A. Dhole & K.D. Lone** (2011). Journal of Research in Biology Preliminary Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Some Weeds collected from Marathwada Region. *Journal of Research in Biology* 1(2): 19–23.
- Diaz, G.J.; L.X. Almeida & D.R. Gardner** (2014). Effects of dietary *Crotalaria pallida* seeds on the health and performance of laying hens and evaluation of residues in eggs. *Research in Veterinary Science* 97(2): 297–303.
- Dinakaran, S.K.; D. Banji; P. Godala & A. Harani** (2011). Pharmacognostical Evaluation Study on *Crotalaria juncea* Linn. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* 6(3): 139–145.
- Fan, C.M.; G.X. Chou & E.Y. Zhu** (2016). Chemical constituents from *Crotalaria sessiliflora* L. *Acta Pharmaceutica Sinica* 51(5): 775–779.
- Fletcher, M.T.; B.J. Blaney; R.A. McKenzie & K.G. Reichmann** (2009). Pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* taxa from Northern Australia: Risk to grazing livestock. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(1): 311–319.

- Gamage, W.; T.M. Brown; W. Gamage & K. Masakorala** (2020). Tolerance of *Impatiens balsamina* L., and *Crotalaria retusa* L. to grow on soil contaminated by used lubricating oil: A comparative study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 188: 109911.
- Garduza, A.B.; M.C.C. Bautista; de los S.G. García; F.A. Hernández; E.L.C. Lagunes & C.J.M. Zaldivar** (2020). Germination of *Crotalaria* and *Lupinus* (Fabaceae) seeds submitted to different pre-germination treatments and their effect on enzymatic activity during early germination. *Brazilian Journal of Biology* 80(1): 23–29.
- Geilfus, C.M.** (2019). Plant Secondary Compounds. En *Controlled Environment Horticulture*. Springer, Cham. pp. 19–33.
- Gomes, C.E.M.; L.B.S. Andrade; A.E.A.D. Barbosa; F.P. Macedo; L.L.P. Macedo; F.T. Moura; R.M. Moura; A.S. Oliveira; J.C.M. Pitanga; A.F.S. Queiroz; M.P. Sales & M.S. Vidal** (2005). Effect of trypsin inhibitor from *Crotalaria pallida* seeds on *Callosobruchus maculatus* (cowpea weevil) and *Ceratitis capitata* (fruit fly). *Plant Physiology and Biochemistry* 43(12): 1095–1102.
- Govindappa, M.; N. Bharath; T.S. Sadananda; P. Sharanappa & H.B. Shruthi** (2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Crotalaria pallida* Aiton. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5(21): 2359–2371.
- Guerra-Centeno, D.; M. Díaz; H. Fuentes-Rousselín; L. Ríos; M. Rodenas; J.C. Valdez-Sandoval & F. Villatoro** (2016). Crecimiento de la cría de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) utilizando hojas de chipilín (*Crotalaria longirostrata*) como sustituto parcial del alimento balanceado. *Revista Electrónica de Veterinaria* 17(10): 1–12.
- Hou, B.; S. Feng & Y. Wu** (2017). Systemic Identification of *Hevea brasiliensis* EST-SSR Markers and Primer Screening. *Journal of Nucleic Acids* 2017(6590902): 1–9.
- Hu, X.R.; G.X. Chou & C.G. Zhang** (2017). Flavonoids, alkaloids from the seeds of *Crotalaria pallida* and their cytotoxicity and anti-inflammatory activities. *Phytochemistry* 143: 64–71.
- Jiménez, A.D.M. & M.A. Grusak** (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition* 70(4): 357–364.
- Kamath, S.; R. Mundugaru; B. Ravishankar & M. Sharma** (2017). *In-vivo* study of tissue reaction to *Crotalaria pallida* and *Sansevieria roxburghiana* fibers. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 8(2): 82–87.
- Kar, S. & B.K. Datta** (2018). Reproductive biology of *Crotalaria spectabilis* Roth. *The International Journal of Plant Reproductive Biology* 10(1): 38–43.
- Kay, J. M.** (2017). *Crotalaria* (Monocrotaline) Pulmonary Hypertension: The Fiftieth Anniversary. *Chest*, 152(6): 1117–1119.
- Le Roux, M.M.; J.S. Boatwright; A.N. Moteetee; P.M. Tilney & B.E. Van Wyk** (2010). The taxonomic value of fruit wall structure in the genus *Crotalaria* (Fabaceae, tribe Crotalarieae). *South African Journal of Botany* 76(2): 397.
- Le Roux, M.M. & B.E. Van Wyk** (2012). The systematic value of flower structure in *Crotalaria* and related genera of the tribe Crotalarieae (Fabaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207(6): 414–426.
- López-López, H.; M. Beltrán-Beache; Y.M. Ochoa-Fuentes; E. Castro-Del Ángel; E. Cerna-Chávez & J.C. Delgado-Ortiz** (2022). Extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida. *Scientia Agropecuaria* 13(1): 71-78.
- Lynch, M.J.; S.C. Hodges; M.J. Mulvaney; T.L. Thompson & W.E. Thomason** (2016). Decomposition, nitrogen and carbon mineralization from food and cover crop residues in the central plateau of Haiti. *SpringerPlus* 5(973): 1–9.
- Mateos-Maces L.; J.J.E. Alba; B.E.N. Aquino; S.J.L. Chávez; G.A.M. Vera & G.B.B. Villagómez** (2020). Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. *Antioxidants* 9(541): 1–24.
- Miranda-Granados, J.; G.P. Álvarez; C. Chacón; R.S. Lagunas; G.R. Meza; L.N. Ruiz; D.E.Vargas & L.G. Zepeda** (2018). Alternative Use of Extracts of Chipilín Leaves (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn) as Antimicrobial. *Sustainability* 10 (3): 883.
- Mondin, M. & M.L.R. Aguiar-Perecin** (2011). Heterochromatin patterns and ribosomal DNA loci distribution in diploid and polyploid *Crotalaria* species (Leguminosae, Papilionoideae), and inferences on karyotype evolution. *Genome* 54(9): 718–726.
- Monquero, P.; L. Barbosa; M. Córrea; A. Gutierrez; A.C. Hirata & I. Orzari** (2013). Selection of Green Manure Species aiming at Diclosulam Phytoremediation. *Planta Daninha* 31(1): 127–135.

- Mosjidis, J.A. & M.L. Wang** (2011). *Crotalaria*. En K.C. (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer, Berlín, Heidelberg. pp. 63–69.
- Muli, K.J.; N.L.M. Budambula; K.P. Kamau; O.J. Neondo & E. Odari** (2021). Phenomic characterization of *Crotalaria* germplasm for crop improvement. *CABI Agriculture and Bioscience* 2(1): 1–15.
- Navarro-Flores, M.J.; A.M. Abud; T.T. del R. Ayora; G.R. Meza & C.L.M.C. Ventura** (2020). Spray drying encapsulation of a native plant extract rich in phenolic compounds with combinations of maltodextrin and non-conventional wall materials. *Journal of Food Science and Technology* 57(11): 4111–4122.
- Ogunsusi, M.; A.O. Akinlalu; I.J. Komolafe & O.O. Oyedapo** (2018). Allelopathic effects of alkaloid fraction of *Crotalaria retusa* Linn on growth and some biochemical parameters of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 10(1): 1–9.
- Oliveira, de D.P.; E.S.B. Cavalcanti; M.L. Furtado; R.A. Montes; S.M. de Moraes; C.C.C. Pinto; L.M.B. dos Santos & E.S. da Silva** (2020). Phytochemical profile and antioxidant potential of Ethanol extracts of the species *Bauhinia monandra* Kurz (Fabaceae). *Brazilian Journal of Development* 6(11): 86551–86564.
- Oliveira, P.R.; B.C. Almeida; E.S. Alvarenga; A.J. Demuner & S.T. de Melo** (2018). A novel alkaloid isolated from *Crotalaria paulina* and identified by NMR and DFT calculations. *Journal of Molecular Structure* 1152: 337–343.
- Pandey, A.; D.C. Bhandari; R. Singh & S.K. Sharma** (2010). Diversity assessment of useful *Crotalaria* species in India for plant genetic resources management. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57(3): 461–470.
- Peñalosa, A.G.C. & J.C.A. Peláez** (2008). Evaluación de la actividad biológica *Crotalaria juncea* mediante el modelo *Drosophila melanogaster*. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 15(2): 279–284.
- Peñalosa, A.G.C. & J.C.A. Peláez** (2014). Evaluación de la actividad biológica de extractos de semillas de *Crotalaria pallida* (cascabelito) sobre el modelo *Drosophila melanogaster*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 19(3): 144–153.
- Peñalosa, A.G.C. & J.C.A. Peláez** (2017). Aislamiento del estigmasterol de las semillas de *Crotalaria juncea* L. (cascabelito) y su bioactividad sobre *Drosophila melanogaster*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 22(3): 1–7.
- Prada, F.; J.R. Martínez & E.E. Stashenko** (2020). LC/MS study of the diversity and distribution of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* species growing in Colombia. *Journal of Separation Science* 43(23): 4322–4337.
- Prasad, J.; K.R. Arya; S.K. Awasthi; G. Bhatia; U. Chaturvedi; T. Narender; V.K. Singh & A. Shrivastava** (2013). Antidyslipidemic and antioxidant activity of an unusual amino acid (2-amino-5-hydroxyhexanoic acid) isolated from the seeds of *Crotalaria juncea*. *Phytomedicine* 21(1): 15–19.
- Raj, J.M.L.; J.S. Britto; S. Prabhu & S.R. Senthilkumar** (2011). Phylogenetic relationships of *Crotalaria* species based on seed protein polymorphism revealed by SDS-PAGE. *International Research Journal of Plant Science* 2(5): 119–128.
- Rakesh, S.R.; M.N. Ganesan; M. Kumar & M.R. Srinivasan** (2019). Studies on diversity, abundance and pollination efficiency of insect pollinators and pollination mechanism involved in sunnhemp (*Crotalaria juncea* L.). *Electronic Journal of Plant Breeding* 10(2): 838–851.
- Rodríguez, M.G.; L. Gómez & B. Peteira** (2007). *Meloidogyne mayaguensis* RAMMAH Y HIRSCHMANN, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. *Revista de Protección Vegetal* 22(3): 183–198.
- Rojas-Sandoval, J.** (2016). *Crotalaria spectabilis* (vidente cascabel). *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CABI. Disponible en: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/16161>. Último acceso: agosto de 2021.
- Rovira, D.; C. Alfaro; V. Martínez & I. Menjivar** (2019). Respiration rate and shelf-life study of *Crotalaria longirostrata* (chipilín). *Journal of Food Measurement and Characterization* 13(4): 3025–3032.
- Saboon, N. Ahmad; M. Arshad; Y. Bibi; S.K. Chaudhari & I. Riaz** (2015). An insight into medicinal and ethnopharmacological potential of *Crotalaria burhia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5(7): 511–514.
- Salinas-Morales, J.L.; C.B. Peña-Valdivia; C. Trejo; M. Vázquez-Sánchez; C. López-Palacios & D. Padilla-Chacón** (2022). Componentes del rendimiento de *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn. en Guerrero, México. *Polibotánica* 54: 101–121.

- Satya, P.; R. Banerjee; A. Bera; B. Chaudhary; M. Karan; R.T. Maruthi; E. Mukhopadhyay & S.K. Sarkar** (2016). Insight into genetic relation and diversity of cultivated and semi-domesticated under-utilized *Crotalaria* species gained using start codon targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 66: 24–32.
- Schinzoumka, P.; A.N. Jean & T. Valère** (2016). Effects of *Acacia albida* and *Crotalaria retusa* on the Growth and Development of Tomato. *Journal of Agriculture and Ecology Research International* 8(3): 1–9.
- Scupinari, T.; C.B. Hoffmann-Campo; R.H. Mannocho; N.E. de Oliveira; D.W. Pereira; F.A.B. Sabino; B.V. Da Silva & M.L. Zeraik** (2020). *Crotalaria spectabilis* as a source of pyrrolizidine alkaloids and phenolic compounds: HPLC-MS/MS dereplication and monocrotaline quantification of seed and leaf extracts. *Phytochemical Analysis* 31(6): 747–755.
- Sinan, K.I.; O.K. Etienne; M.F. Mahomoodally; S.K. Pavelić; Ž. Peršurić; M.C.N. Picot-Allain; L. Saftić & G. Zengin** (2020). A comparative study of the chemical composition, biological and multivariate analysis of *Crotalaria retusa* L. stem barks, fruits, and flowers obtained via different extraction protocols. *South African Journal of Botany* 128: 101–108.
- Singtonat, S. & M. Osathanunkul** (2015). Fast and reliable detection of toxic *Crotalaria spectabilis* Roth. in *Thunbergia laurifolia* Lindl. herbal products using DNA barcoding coupled with HRM analysis. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15(1): 1–8.
- Skinner, E.M.; J.C. Díaz-Pérez; S.C. Phatak; H.H. Schomberg & W. Vencill** (2012). Allelopathic effects of sunnhemp (*Crotalaria juncea* L.) on germination of vegetables and weeds. *HortScience* 47(1): 138–142.
- Stegelmeier, B.L.** (2011). Pyrrolizidine Alkaloid-Containing Toxic Plants (*Senecio*, *Crotalaria*, *Cynoglossum*, *Amsinckia*, *Heliotropium*, and *Echium* spp.). *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* 27(2): 419–428.
- Subaedah, S.; A. Aladin & Nirwana** (2016). Fertilization of Nitrogen, Phosphor and Application of Green Manure of *Crotalaria juncea* in Increasing Yield of Maize in Marginal Dry Land. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 9: 20–25.
- Subramaniam, S.; R. Geeta; M.E. Mort & A.K. Pandey** (2013). Molecular systematics of Indian *Crotalaria* (Fabaceae) based on analyses of nuclear ribosomal ITS DNA sequences. *Plant Systematics and Evolution* 299(6): 1089–1106.
- Sut, S.; K. Bene; S. Dall'Acqua; G. Kumar; M.F. Mahomoodally; C. Picot-Allain; K.I. Sinan & G. Zengin** (2020). *Cola caricifolia* (G. Don) K. Schum and *Crotalaria retusa* L. from Ivory Coast as sources of bioactive constituents. *Industrial Crops and Products* 147: 112246.
- Sutjaritjai, N.; H. Balslev; A. Inta & P. Wangpakapattanawong** (2019). Traditional uses of leguminosae among the Karen in Thailand. *Plants* 8(12): 1–20.
- Suwanchaikasem, P.; T. Phadungcharoen & S. Sukrong** (2013). Authentication of the Thai medicinal plants sharing the same common name "Rang Chuet": *Thunbergia laurifolia*, *Crotalaria spectabilis*, and *Curcuma* aff. *amada* by combined techniques of TLC, PCR-RFLP fingerprints, and antioxidant activities. *ScienceAsia* 39(2): 124–133.
- Thomas, B.; I. Balachandran; S. George; K.M.P. Kumar & A. Rajendran** (2012). A new variety of *Crotalaria ramosissima* (Fabaceae) from Tamil Nadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2(3 SUPPL.): S1412–S1414.
- Tripathi, M.K.; H.R. Bhandari; B. Chaudhary & S.R. Singh.** (2013). Growth and yield of sunnhemp (*Crotalaria juncea* L.) as influenced by spacing and topping practices. *African Journal of Agricultural Research* 8(28): 3744–3749.
- Ukil, S.; S. Laskar & R. N. Roy** (2016). Physicochemical characterization and antibacterial activity of the leaf oil of *Crotalaria pallida* Aiton. *Journal of Taibah University for Science* 10(4): 490–496.
- Vergun, O.; J. Brindza; O. Grygorieva; E. Ivanišová; D. Rakhmetov & O. Shymanska** (2020). Parameters of antioxidant activity of *Galega officinalis* L. and *Galega orientalis* Lam. (fabaceae Lindl.) plant raw material. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences* 14: 125–134.
- Villalobos, S. & N. Ramírez** (2010). Biología reproductiva de *Crotalaria micans* Link (Fabaceae): Especie colonizadora de amplia distribución geográfica. *Acta Botánica Venezolánica* 33(1): 67–81.
- Wanapat, M.; M. Matra; P. Totakul & B. Viennasay** (2021). Sunnhemp (*Crotalaria juncea*, L.) silage can enrich rumen fermentation process, microbial protein synthesis, and nitrogen utilization efficiency in beef cattle crossbreds. *Tropical Animal Health and Production* 53(187): 1–7.
- Wang, M.L.; R.E. Dean; T.M. Jenkins; J.A. Mosjidis; J.B. Morris & G.A. Pederson** (2006). Genetic diversity of *Crotalaria* germplasm assessed through phylogenetic analysis of EST-SSR markers. *Genome* 49(6): 707–715.

Rev. Fac. Agron., La Plata (2022) Vol 121(2). Potencial Agroecológico de Crotalaria spp.:1-16

- Yashim, S.M.; D.O. Anene & I.U. Gadzama** (2017). Effect of sampling time on Haematological Characteristics of Weaner rabbits fed diets containing differently processed *Crotalaria retusa* Leaves. *Nigerian Journal of Animal Science* 19(1): 192–202.
- Yoo, S.H.; J. Kim; Y.C. Kim & S.J. Lee** (2004). Flavonoids of *Crotalaria sessiliflora*. *Archives of Pharmacal Research* 27(5): 544–546.
- Zhang, W.; H. Fan; W. Huai; J. Shen; X. Tang; K. Wang; X. Xie & Y. Zhang** (2017). Ultra-Performance Liquid Chromatography Hyphenated with Quadropole-Orbitrap Mass Spectrometry for Simultaneous Determination of Necine-Core-Structure Pyrrolizidine Alkaloids in *Crotalaria sessiliflora* L. without all Corresponding Standards. *Phytochemical Analysis* 28(5): 365–373.



RESEARCH ARTICLE



Methanolic extract of *Crotalaria longirostrata*: Identification of secondary metabolites and insecticidal effect

Extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida

Henry López López¹ ; Mariana Beltrán Beache² ; Yisa María Ochoa Fuentes¹ ; Epifanio Castro del Ángel¹ ; Ernesto Cerna Chávez¹ ; Juan Carlos Delgado Ortiz³ 

¹ Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

² Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agropecuarias-Departamento de Fitotecnia. Posta Zootécnica, C.P. 20700. Jesús María, Aguascalientes, México.

³ Conacyt-UAAAN, Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

* Corresponding author: jdelgado@conacyt.mx; moe_788@hotmail.com (J. C. Delgado Ortiz).

Received: 24 November 2021. Accepted: 12 March 2022. Published: 28 March 2022.

Abstract

The complications caused by the generation of resistance in the psyllid *Bactericera cockerelli* by chemical pesticides, raise the need for the alternative use of products that reduce resistance and ensure better control. The species *Crotalaria longirostrata* is a source of secondary metabolites, which show possible activity against insect pests. The objective of the research was to identify the compounds of the crude methanolic extract of *C. longirostrata* leaves, as well as to evaluate their biological activity on *B. cockerelli* nymphs. Twenty-five compounds were identified by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) analysis; the most abundant was 1β,2β-epoxy-1α-methoxymethyl-8α-pyrrolizidine; an alkaloid of the iminosugar group, reported for the first time in *C. longirostrata*, of which concentrations from 2 to 30 mg/mL of the methanolic extract had to be prepared to evaluate on *B. cockerelli* nymphs. It showed that at 48 h, there was a mortality of 73.2%-100% in the treatments of 8, 12, 16, 20, and 30 mg/mL. The mean lethal concentration (LC₅₀) was 4.78 mg/mL and LC₉₅ 14.52 mg/mL. The results obtained with the methanolic extract of *C. longirostrata* leaves for controlling the insect *B. cockerelli* suggest that it can potentially be used as an alternative insecticide of botanical origin to manage the insect.

Keywords: Chipilín; Pyrrolizidine alkaloids; iminosugar; mortality; tomato psyllid; biological control.

Resumen

Las complicaciones ocasionadas por la generación de resistencia en el psílido *Bactericera cockerelli* por los plaguicidas químicos, plantean la necesidad del uso alternativo de productos que reduzcan la resistencia y garanticen un mejor control. La especie *Crotalaria longirostrata* es una fuente de metabolitos secundarios, que presentan posible actividad contra insectos plaga. El objetivo de la investigación fue identificar los compuestos del extracto metanólico crudo de hojas de *C. longirostrata*, así como evaluar su actividad biológica sobre ninfas de *B. cockerelli*. Se identificaron 25 compuestos por análisis de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS); de los cuales, el de mayor abundancia fue el 1β,2β-epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina; un alcaloide del grupo de las iminoazúcares, reportándose por primera vez en *C. longirostrata*, del cual se prepararon concentraciones desde 2 a 30 mg/mL del extracto metanólico para evaluar sobre ninfas de *B. cockerelli*. Observándose que a las 48 h se presentó una mortalidad de 73,2%-100% en los tratamientos de 8, 12, 16, 20 y 30 mg/mL. La concentración letal media (CL₅₀) fue de 4,78 mg/mL y CL₉₅ 14,52 mg/mL. Los resultados obtenidos con el extracto metanólico de hojas de *C. longirostrata* para el control del insecto *B. cockerelli* sugieren que puede ser empleado como un insecticida de origen botánico alternativo al manejo del insecto.

Palabras clave: Chipilín; Alcaloide pirrolizidínico; iminoazúcar; mortalidad; psílido del tomate; control biológico.

DOI: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.007>

Cite this article:

López López, H., Beltrán Beache, M., Ochoa Fuentes, Y. M., Castro del Ángel, E., Cerna Chávez, E., & Delgado Ortiz, J. C. (2022). Extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida. *Scientia Agropecuaria*, 13(1), 71-78.

1. Introducción

Una de las hortalizas que tiene una aportación importante y nutricional en la dieta humana es el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pertenece a la familia de las *Solanáceas*, siendo el género más grande y con mayor importancia económica, con origen en Sudamérica y amplia extensión de cultivo en el mundo (Tamburino et al., 2020). El cultivo de esta hortaliza se encuentra constantemente en ajuste sobre el manejo agronómico de los sistemas productivos intensivos (Zhu et al., 2018). Sin embargo, los sistemas productivos se encuentran con restricciones por el cambio climático que limitan fuertemente el desarrollo del cultivo de tomate (Mutale-joan et al., 2020), originando la aparición de enfermedades y de insectos plaga, que sin el control oportuno, limitan el rendimiento y la eventual pérdida de la producción (Liu & Wang, 2020).

Una de estas plagas que causan daños económicos en el tomate y otras solanáceas es el psílido *B. cockerelli*, presente en el sur de Canadá, Estados Unidos y México principalmente (Sumner et al., 2020). El daño que efectúa es de manera directa por la alimentación de la savia de la planta e indirecta por la transmisión de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CLso) (Gutiérrez-Ramírez et al., 2021), siendo responsable de la disminución de hasta un 60% en los rendimientos esperados (Rivera-Martínez et al., 2018). Recientemente, se determinó la distribución del haplotipo Central de *B. cockerelli* en Aguascalientes, Zacatecas, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Puebla, San Luis Potosí, Nayarit, Nuevo León, Durango, Michoacán, Coahuila y Tamaulipas, en México; así como se determinó la presencia de CLso en el 88.57% de las poblaciones *B. cockerelli* procedentes de los estados antes mencionados (Cerna et al., 2021).

El manejo agronómico de *B. cockerelli* se ha realizado de manera cultural con mallas de poro pequeño que limitan el acceso del psílido a las zonas de cultivo y trampas pegajosas de color amarillo (Roller Trap) (Vereijssen et al., 2018); eliminar hospederos alternos dentro y fuera del cultivo (Delgado-Ortiz et al., 2019); así como acolchados plásticos de color gris-plata (Lozano et al., 2018). El manejo químico es el más usado por su rápido efecto y su alta mortandad sobre el insecto para la protección de la planta (Tucuch-Haas et al., 2020); efectuándose hasta 30 aplicaciones en el cultivo de papa para el manejo esta plaga (Cerna et al., 2012), con insecticidas superficiales (mineral de aluminosilicato, aceites minerales) (Vereijssen et al., 2018), de contacto (cipermetrina, cyfluthrin, dimetoato, pyriproxifen, esfenvalerato, spiromesifen) (Beltran et al., 2015; Cerna et al., 2012; Tucuch-Haas et al., 2010) y sistémicos (abamectina, aldicarb, cianiliprol, ciantraniliprol, imidacloprid, espirotetramat, endosulfan, disulfoton, ditiofosfato, tiametoxam, thiacloprid, methamidophos) (Carmo-Sousa et al., 2020; Tucuch-Haas et al., 2020).

Sin embargo, los métodos de control químico han desarrollado resistencia en *B. cockerelli*, la eliminación de enemigos naturales, fitotoxicidad en los suelos y cultivos agrícolas (Kolomiets et al., 2019). Una alternativa biorracional a esta problemática es el manejo a través de extractos de plantas (Barrios-Díaz et al., 2016), por su baja toxicidad para el ser humano y el ambiente, así como la

baja resistencia que pueda llegar a generar en el insecto (Delgado-Oramas et al., 2020).

La planta *Crotalaria longirostrata* (Hook. & Arn.), de la familia Fabaceae (Mateos-Maces et al., 2020), una planta nativa de América central y México (Jiménez & Grusak, 2015). Conocida como chipilín y empleada como alimento por su alto contenido de aminoácidos esenciales como arginina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, treonina y valina (Mateos-Maces et al., 2020); presenta un alto contenido de metabolitos secundarios como ácidos orgánicos, flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides, con actividad biológica en plagas y enfermedades (Cruz-Rodríguez et al., 2020; Rovira et al., 2019).

Se ha reportado el efecto inhibitorio del extracto acuoso de hojas *C. longirostrata*, el cual presentó acción fungistática a las 96 h sobre *Fusarium* sp. (31%), *F. solani* (21%), *F. oxysporum* (27%) y la fracción de éter etílico generó únicamente actividad bactericida sobre *Staphylococcus epidermidis* (27%) (Miranda-Granados et al., 2018). Al igual que el extracto metanólico de las raíces inhibieron el crecimiento micelial y la esporulación sobre *F. verticillioides* (71%, respectivamente); los extractos metanólicos de ramas, tallo y raíz inhibieron el crecimiento micelial y la esporulación de *Aspergillus flavus* en un 90% (Cruz-Rodríguez et al., 2017). De lo anterior, para el manejo de *F. verticillioides* en el cultivo de *Zea mays*, se reporta la presencia de ácido cafeico, ácido gálico y el alcaloide pirrolizidínico (AP) monocrotalina, como los compuestos con mayor abundancia del extracto crudo de ramas de *C. longirostrata*, como los posibles responsables de la acción fungistática, los cuales generaron una disminución en la incidencia y severidad del 11 y 30%, respectivamente (Cruz-Rodríguez et al., 2020). Se ha demostrado el control de *Meloidogyne incognita* y *M. arenaria* en el cultivo de tomate bajo invernadero, mediante el manejo de residuos en suelo de *C. longirostrata* del 2% (p/p); obteniendo una disminución del daño en un 71% (Del Prado-Vera et al., 2018).

Se ha identificado que el género *Crotalaria* muestra contenidos elevados de APs como la monocrotalina, que inhibe las proteasas de los herbívoros generalistas asociados con los cultivos agrícolas. Así mismo, dichos APs hacen que las plantas de *Crotalaria* sean atrayentes de enemigos naturales de insectos como *Chrysoperla externa*, *Doru luteipes*, *Nephila clavipes*, *Orius insidiosus* y *Trichogramma papilionis* (Rech et al., 2022).

Hasta el momento no existe evidencia del efecto insecticida de *C. longirostrata*, sin embargo, en otras especies del género *Crotalaria* se ha demostrado este efecto insecticida, como con *C. retusa* para el control de *Callosobruchus maculatus* con la cual se obtuvo una mortalidad de hasta el 54% y la reducción del 62% de emergencia de adultos (Obembe & Kayode, 2013). Las semillas de *C. pallida* se han empleado para la elaboración del extracto de diclorometano; el cual desencadenó un efecto insecticida sobre pupas y larvas de *Drosophila melanogaster* con una CL₅₀ de 7,95 ppm de usamarina y 156,47 ppm, respectivamente (Peñaloza & Peláez, 2014). El estigmaterol extraído de semillas de *C. juncea* presentó efecto insecticida sobre pupas de *D. melanogaster* a una concentración de CL₅₀ de 178,8 ppm (Peñaloza & Peláez,

2017). Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue identificar los compuestos del extracto metanólico crudo de hojas de *C. longirostrata*, así como evaluar su actividad biológica sobre ninfas de *B. cockerelli*.

2. Materiales y métodos

Colonia de *Bactericera cockerelli*

El insecto fue obtenido en 2018 de zonas de cultivo de papa y tomate en Nuevo León y Coahuila.

El mantenimiento y desarrollo de la colonia se ha llevado a cabo en jaulas entomológicas con plantas de tomate variedad Río Grande, con un fotoperiodo de 14:10 h (Luz/Oscuridad) a 22 °C en el invernadero del departamento de parasitología agrícola, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (Roque-Enríquez et al., 2021).

Muestreo y obtención de extracto de *Crotalaria longirostrata*

El muestreo fue realizado según lo descrito por Miranda-Granados et al. (2018, con modificaciones), la colecta se llevó a cabo en el municipio de Chiapa de Corzo, Chiapas, México. Se recolectaron tallos con hojas y se trasladaron en bolsas de papel. Posteriormente se eligieron únicamente hojas (con folíolos elíptico-obovados y cara adaxial sin puntos glandulares) para secarlas a la sombra por siete días, después se pulverizaron en una licuadora (Waring Commercial, modelo 7011s), se sometió a maceración en metanol al 96% (Meyer, CDMex, México) durante 30 días (0,2 g de materia seca/ mL de solvente). Después se filtró con ayuda de una bomba de vacío y papel Whatman N° 1, se almacenó el extracto crudo en un frasco ámbar a 4 °C hasta su uso.

Análisis de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS)

Se llevó a cabo en el laboratorio de Biogeoquímica (UBIPRO) de la Universidad Nacional Autónoma de México, Iztacala, México. Los metabolitos presentes en el extracto de hojas de *C. longirostrata* se identificaron en un cromatógrafo de gases modelo 6850 (Agilent Technologies, USA) empleando una columna HP-5MS (Agilent) con longitud de 30 m x 250 mm de diámetro interno y una película de 0,25 µm; el horno se programó a una temperatura de 150 °C por 2 minutos, enseguida se incrementó 10 °C/min hasta 300 °C por 4 minutos, en la fase móvil se utilizó Helio (flujo 1 mL/min). El detector de espectrometría de masas 5975C (Agilent Technologies, USA) se acondicionó a un barrido completo en un rango de masas de 35 a 400 m/z, a una ionización de 70 eV, con temperatura de la fuente de ionización de 230 °C y temperatura del cuadrupolo 150 °C. La tipificación de los compuestos se estableció con base en los espectros generados, usando la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (por sus siglas en inglés, NIST versión 08 MS).

Densidad relativa

Esta determinación fue realizada según lo descrito por Solihah et al. (2018, con modificaciones), a partir del extracto metanólico de hojas de *C. longirostrata* con un

picnómetro Gay-Lussac de 25 ml (Brand 16038, Alemania) a 24 °C. Se calculó la densidad del extracto mediante la fórmula:

$$\text{Densidad relativa} = \frac{(m_1 - m)}{m_2 - m} * d_{24}^t$$

Donde, m es la masa del picnómetro vacío (g), m₁ la masa del picnómetro con la muestra de ensayo (g), m₂ masa del picnómetro con agua (g) y d₂₄^t es la densidad del agua a 24 °C (0,997299 g/cm³). Los resultados se expresaron en mg/mL. Se ha reportado la pérdida de acción biológica al fraccionar el extracto de *C. longirostrata* (Cruz-Rodríguez et al., 2020); debido a dicho antecedente, en este estudio se optó por trabajar el extracto crudo sin fraccionar y la preparación de las concentraciones se empleó como base el porcentaje de abundancia del compuesto 1β,2β-epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina obtenido del análisis de GC-MS.

Bioensayo

Empleando el cálculo de las concentraciones del alcaloide pirrolizidinico 1β,2β-epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina, se estableció una ventana de respuesta biológica con las concentraciones de 10, 20, 40, 60, 80 y 100 mg/mL, un testigo absoluto con agua destilada estéril. Se empleó el método de prueba de susceptibilidad número 032 versión 1 del Comité de Acción de Resistencia a Insecticidas (IRAC, 2014) con modificaciones. A partir de la ventana biológica se prepararon siete tratamientos a 2, 4, 8, 12, 16, 20 y 30 mg/mL para posteriormente sumergir en ellos las hojas de tomate variedad Río Grande en cada tratamiento con 11 ninfas del 3ro y 4to instar de *B. cockerelli* durante 5 segundos, así como en agua destilada como testigo absoluto; las hojas se dejaron secar y posteriormente se colocaron dentro de cajas Petri con papel filtro saturado con agua destilada estéril. Considerando cada hoja infestada como una unidad experimental. El ensayo se mantuvo a una temperatura de 23 °C con un fotoperiodo de 14:10 h (luz/oscuridad). La evaluación de la mortalidad se realizó cada 24 h posteriores a la aplicación del extracto. Se utilizó un microscopio estereoscópico (Carl Zeiss Stemi DV4) para registrar el número de ninfas muertas, comprobando con ayuda de un pincel la respuesta de algún movimiento coordinado del insecto.

Análisis de datos

Los resultados se expresaron como porcentaje de mortalidad y se corrigió la mortalidad empleando la fórmula de Abbott (Abbott, 1925). El análisis Probit se efectuó con la mortalidad corregida para curva de concentración-mortalidad. Posteriormente los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y las medias se compararon a través de la prueba de Tukey (p = 0,05), bajo un diseño completamente al azar, mediante el programa estadístico SAS versión 9.0.

3. Resultados y discusión

El análisis cromatográfico (GC-MS) demostró la presencia de 25 metabolitos secundarios, en la Tabla 1 se observa el alcaloide pirrolizidinico 1β,2β-epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina con mayor abundancia (10,2 %) presente en el extracto metanólico de hojas de *C. longirostrata*.

Tabla 1
Metabolitos secundarios obtenidos del extracto metanólico de *C. longirostrata*

Compuesto	CAS	Referencia	Rt*	Área %
1β,2β-Epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina	015211-08-2	37050	4,79	10,23
1-Octanamine	000111-86-4	12887	5,32	0,9
Phenol, 4-(1-phenylethyl)-	001988-89-2	58058	11,74	2,52
3-Aminomethyl-3,5,5-trimethylcyclohexanol, dis-	130343-30-5	38150	13,91	1,97
Cyclododecanol, 1-aminomethyl-	000832-29-1	69507	14,74	0,57
Hexadecanoic acid, methyl ester	000112-39-0	113682	15,61	3,02
n-Hexadecanoic acid	000057-10-3	102726	16,53	4,18
Ethanol, 2-bromo-	000540-51-2	10128	18,74	0,98
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	000301-00-8	130796	18,87	6,58
11-Tridecen-1-ol	1000130-96-8	58021	19,33	10,05
9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	000463-40-1	119801	19,8	17,83
Pyrimidine, 4,6-dimethoxy-5-nitro-	015846-14-7	48364	20,13	6,06
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	000103-23-1	182869	23,94	1,62
Phenol, 2,4-bis(1-phenylethyl)-	002769-94-0	138543	24,1	3,3
Phenol, 2,4-bis(1-phenylethyl)-	002769-94-0	138543	24,37	3,95
Phenol, 2,4-bis(1-phenylethyl)-	002769-94-0	138543	25,37	2,63
N-(3-Methylbutyl) acetamide	013434-12-3	12820	26,6	0,66
2,4(1H,3H)-Pyrimidinedione, dihydro-5-hydroxy-	001635-26-3	13029	28,7	0,58
Urea, N, N'-diethyl-	000623-76-7	7925	30,67	0,73
1-Dodecanamine	000124-22-1	48301	32,55	7,83
2-Aminoethylsulfide	036489-03-9	4883	33,11	1,17
Oleylamine	000112-90-3	111106	38,15	8,41
Nonadecylamine	001430-05-3	123645	45,31	2,8
Nonadecylamine	001430-05-3	123645	51,2	0,71
L-Alanine, 3-[(aminocarbonyl)amino]-	001483-07-4	22001	52,71	0,72

*Rt: tiempo de retención (min).

Los alcaloides de pirrolizidina (AP) son compuestos tóxicos producidos frecuentemente por plantas en todo el mundo, se estima que el 3% (más de 6000 especies) del total de las plantas los sintetizan (Dreger et al., 2009; Robinson & Gummow, 2015); se han descrito cerca de 660 AP que afectan a animales silvestres y ganado (Chen et al., 2010; Diaz, 2015). Se ha identificado que los AP se encuentran en especies de la familia de las Fabáceas, son tóxicos para insectos herbívoros polífagos como el género *Hoplitis* (Sedivy et al., 2013). Especies del género *Crotalaria* son ricas en AP, que han sido asociados a la defensa de la planta contra herbívoros, siendo reportados por primera vez en 1935 (Casimiro et al., 2013; Prada et al., 2020). La especie *C. spectabilis* demostró alta abundancia del AP monocrotalina (0,21 mg/g de peso seco) en las hojas, en orden decreciente se encuentran los nódulos, raíces y tallos (Schramm et al., 2019), coincidiendo dicho reporte con nuestros resultados en la abundancia del AP en el extracto metanólico de hojas de *C. longirostrata*. El compuesto 1β,2β-epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina es una iminoazúcar ramificada en la base de la necina exclusivamente en el carbono C1 con un doble enlace 1,2 en el anillo de pirrolizidina, descrito en 1963 en *C. trifolium* (Dehoux-Baudoin & Génisson, 2019) y en la especie *C. medicaginea* var. *neglecta* en 2009 (Fletcher et al., 2009). Los iminoazúcares son compuestos hidrofílicos, de fácil administración por vía oral; son inhibidores de enzimas modificadoras de carbohidratos para la absorción y asimilación en el tracto digestivo (glucosidasas), inhibidores en la síntesis de polisacáridos (glucosiltransferasas), así como inhibidores de enzimas procesadoras de nucleótidos y metaloproteinasas (Esposito et al., 2020). Este tipo de inhibidores intervienen en la hidrólisis de enlaces glicosídicos de los procesos biológicos en humanos e insectos,

por lo que el potencial de aplicación se basa como agentes terapéuticos en la medicina y en el área agrícola como insecticida (Ramesh, 2020).

De los 25 metabolitos secundarios identificados en el extracto metanólico de *C. longirostrata*, la Tabla 2 muestra que ocho de estos compuestos muestran actividad biocida; no obstante, la relación con la actividad insecticida en la mayoría de ellos es limitada.

El bioensayo efectuado a partir del extracto metanólico de hojas de *C. longirostrata* se observó una mortalidad superior al 80% en las concentraciones superiores a 16 mg/mL; en las primeras 24 horas de aplicación; siendo que a las 48 h a partir de 12 mg/mL se generó un incremento significativo en la mortalidad del 90% (Tabla 3), observándose una tendencia en el aumento de la mortalidad a las 72 h en las dosis bajas. En base al contenido del AP del extracto crudo metanólico de *C. longirostrata*, los datos de la mortalidad correspondientes a las 48 h arrojaron una CL₅₀ de 4,78 mg/mL y CL₉₅ 14,52 mg/mL (con *p* < 0,05) (Tabla 4).

Es limitada la información del efecto insecticida del 1β,2β-epoxy-1α-metoximetil-8α-pirrolizidina, sin embargo, hay evidencia de algunos AP identificados en plantas del género *Crotalaria* con dicha capacidad. Tal es el caso de *C. pumila* que se suministraron diversas partes de la planta como fuente de alimento en larvas de *Stigmene acrea* y *Grammia geneura*, se obtuvo la acumulación de APs (supinina, subilacina, necina, pumilina A, B y C) del 70 y 37% respectivamente, que generaron un bajo desarrollo de las larvas (Hartmann et al., 2004). También se ha reportado el control de pupas de *D. melanogaster* con semillas de *C. pallida* mediante el compuesto usamarina (Peñalosa & Peláez, 2014).

Tabla 2
Actividad biocida de metabolitos secundarios reconocidos en el extracto metanólico de *C. longirostrata*

Metabolito secundario	Solvente de extracción/Especie vegetal/actividad biológica	Patógeno	Referencia
11-Tridecen-1-ol	Metanol/ <i>Juglans regia</i> / Antimicrobiano	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella suis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Shigella sonnei</i>	(Ara et al., 2013)
Phenol, 4-(1-phenylethyl)-	Metanol y acetona/ <i>Carica papaya</i> / Antifúngico	<i>Ganoderma boninense</i>	(Tay & Chong, 2016)
Phenol, 2,4-bis(1-phenylethyl)-	Etanol/ <i>Tamarindus indica</i> / Antimicrobiano Metanol/ <i>Vernonia cinerea</i> / Antimicrobiano	<i>E. coli</i> , <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	(Mala et al., 2017); (Joshi et al., 2021)
Hexadecanoic acid, methyl ester	Acetona/ <i>Melia azedarach</i> / Insecticida Diclorometano/ <i>Ficus sycomorus</i> / Acaricida e insecticida Metanol/ <i>Chromolaena odorata</i> / Insecticida Metanol y acetona/ <i>Azolla pinnata</i> / Insecticida Metanol/ <i>Chenopodium album</i> / Fungicida Cloroformo/ <i>Sonchus oleraceus</i> / Fungicida Cloroformo/ <i>Ageratum conyzoides</i> / Fungicida	<i>Spodoptera littoralis</i> <i>Tetranychus utricae</i> , <i>Aphis craccivora</i> y <i>Sitophilus oryzae</i> <i>S. zeamais</i> <i>Aedes albopictus</i> <i>Sclerotium rolfsii</i> <i>Macrophomina phaseolina</i> <i>M. phaseolina</i>	(Faraq et al., 2011); (Romeh, 2013); (Lawal et al., 2015); (Ravi et al., 2018); (Ali et al., 2017); (Banaras et al., 2020); (Banaras et al., 2021)
n-Hexadecanoic acid	Diclorometano/ <i>Ficus sycomorus</i> / Insecticida Metanol y acetona/ <i>A. pinnata</i> / Insecticida Éter de petróleo/ <i>Nigella sativa</i> / Insecticida	<i>T. utricae</i> , <i>A. craccivora</i> y <i>S. oryzae</i> <i>A. albopictus</i> <i>Culex pipiens</i>	(Romeh, 2013); (Ravi et al., 2018); (Faraq et al., 2021)
9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-; 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	Etanol/ <i>Acanthus montanus</i> / Insecticida Éter de petróleo/ <i>Robinia pseudoacacia</i> / Insecticida Acetato de etilo/ <i>Moringa oleifera</i> / Nematicida	<i>Periplaneta americana</i> , <i>Tettigonia viridissima</i> y <i>Anopheles gambiae</i> . <i>A. gossypii</i> y <i>Brevicoryme brassicae</i> . <i>Haemonchus contortus</i> y <i>Nacobbus aberrans</i> .	(Okonkwo & Moses, 2017); (Jiang et al., 2018); (Páez-León et al., 2022)
Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	Cloroformo/ <i>Carthamus oxyantha</i> / Fungicida Metanol/ <i>Senegalia gaueri</i> / Nematicida	<i>Rhizoctonia solani</i> <i>H. contortus</i>	(Rafiq et al., 2021); (Castañeda-Ramírez et al., 2019)

Tabla 3
Efecto del extracto metanólico de *C. longirostrata* sobre el porcentaje de mortalidad de ninfas de *B. cockerelli*

Tratamientos (mg/mL)	Horas posteriores a la aplicación		
	24	48	72
Testigo	0 ± 0d	0 ± 0d	0 ± 0d
2	2,5 ± 5d	4,8 ± 5,52d	24,1 ± 18,26c
4	26,8 ± 12,48c	50,9 ± 15,08c	75,2 ± 17,58b
8	36,6 ± 12,47c	73,2 ± 20,55b	95,2 ± 5,52ab
12	70,7 ± 8,28b	90,2 ± 0,45ab	100 ± 0a
16	92,7 ± 4,87a	100 ± 0a	100 ± 0a
20	82,9 ± 9,46ab	95,2 ± 5,52ab	100 ± 0a
30	97,5 ± 5a	100 ± 0a	100 ± 0a
p-valor	0,0001	0,0001	0,0001

* Medias con la misma letra en cada columna no son estadísticamente diferentes (Tukey; p < 0,05).

Tabla 4
Concentraciones letales y límites fiduciales del extracto metanólico de *C. longirostrata* sobre ninfas de *B. cockerelli*

Concentración Letal	Límites fiduciales (95 %) LFI-LFS	Ecuación de predicción	Coefficiente de correlación
CL ₅₀ 4,78	3,52 - 6,05	Y = -2,3180x + 3,4102	0,623
CL ₉₅ 14,52	10,83 - 23,76		

CL: Concentración Letal (en mg/mL); LFI: Límite Fiducial Inferior; LFS: Límite Fiducial Superior.

Asimismo, en larvas de *Heliothis virescens* se logró un efecto insecticida suministrando una dieta con hojas de *C.*

pallida con una concentración de $1,29 \times 10^{-3}$ µg AP/mg de hoja (Cogni & Trigo, 2016). La especie *Jacobaea vulgaris* (Asteraceae) presenta APs (senecionina, senkirkine y retrorsina) que inhibieron la supervivencia en ninfas de *Frankliniella occidentalis* del 40 al 100% con la concentración de 50 ppm y monocrotalina hasta el 80% (Macle et al., 2005). Liu et al. (2017) reportan la mortalidad de larvas del segundo estadio de *F. occidentalis* por el metabolito jacobina obtenida de la planta *J. vulgaris* a una concentración de 2,45 ppm.

Este efecto insecticida probablemente se deba a que los alcaloides de manera general afectan en el insecto las conexiones nerviosas, alteraciones de la membrana celular y cambios en el citoesqueleto; los AP interactúan con los microorganismos del tracto digestivo debido a la alcalinidad del intestino del insecto, generando una toxicidad y una actividad sinérgica con algunas enzimas como la P450 (Fürstenberg-Hägg et al., 2013; Tlak Gajger & Dar, 2021); la inhibición de enzimas de insectos como la trehalasa presente en el intestino delgado (esta enzima genera la energía a través de la hidrólisis del disacárido trehalosa para el crecimiento, síntesis de quitina, metamorfosis y energía para el vuelo del insecto), esta glucosidasa es inhibida en ambos subditos en el centro catalítico; por lo que los iminoazúcares naturales podrían funcionar como insecticidas o larvicidas (Shukla et al., 2015). De igual manera, se observó la inhibición de la enzima α-glucosidasa del psílido *Cacopsylla bidens* por los compuestos 1-deoxynojirimicina, N-butyl-deoxynojirimicina y N-butyl-deoxygalctonojirimicina (hasta el 90 % a las 24 h) (Ya'kobovitz et al., 2016).

4. Conclusiones

Los resultados demuestran que el extracto metanólico crudo obtenido de las hojas de chipilín contiene AP del grupo de las iminoazúcares (1 β ,2 β -epoxy-1 α -metoximetil-8 α -pirrolizidina); reportándose como el compuesto de mayor abundancia en el extracto de hojas de chipilín, que ocasionó la mortandad de las ninfas del psílido *B. cockerelli*. Alcanzando a las 48 h una mortalidad del 73,2-100% en los tratamientos 8, 12, 16, 20 y 30 mg/mL, obteniéndose una CL₅₀ de 4,78 mg/mL y una CL₉₅ de 14,52 mg/mL. Demostrando con esta investigación el potencial como insecticida del extracto de *C. longirostrata* para ser empleado como un insecticida alternativo en el control de *B. cockerelli*. Las investigaciones futuras deberían de considerar la evaluación de su eficacia contra diferentes plagas de insectos; así como el posible impacto en el ciclo de desarrollo de la plaga objetivo y su efecto con las enfermedades transmitidas por el insecto.

Declaración de intereses

Los autores declaran que no tienen intereses en conflicto.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización del Posgrado a Henry López. Así como al apoyo del Proyecto 1048 del programa Cátedras CONACYT.

ORCID

H. López López  <https://orcid.org/0000-0003-1551-3055>
 M. Beltrán Beache  <https://orcid.org/0000-0002-3109-9360>
 Y. M. Ochoa Fuentes  <https://orcid.org/0000-0001-7859-8434>
 E. Castro del Ángel  <https://orcid.org/0000-0002-5534-1262>
 E. Cerna Chávez  <https://orcid.org/0000-0003-2263-4322>
 J. C. Delgado Ortiz  <https://orcid.org/0000-0003-4899-9995>

Referencias bibliográficas

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267.
- Ali, A., Javaid, A., & Shoaib, A. (2017). GC-MS analysis and antifungal activity of methanolic root extract of *Chenopodium album* against *Sclerotium rolfsii*. *Planta Daninha*, 35, 1–8.
- Ara, I., Shinwari, M. M. A., Rashed, S. A., & Bakir, M. A. (2013). Evaluation of Antimicrobial Properties of Two Different Extracts of *Juglans regia* Tree Bark and Search for Their Compounds Using Gas Chromatography-Mass Spectrum. *International Journal of Biology*, 5(2), 92–102.
- Barrios-Díaz, B., Arellano-Fuentes, M. E., Vázquez-Huerta, G., Barrios-Díaz, J. M., Berdeja-Arbeu, R., & Hernández-Tapia, M. del R. (2016). Control alternativo de paratizoza (*Bactericera cockerelli* Sulc.) en chile serrano (*Capsicum annum* L.). *Entomología mexicana*, 3(2014), 146–152.
- Banaras, S., Javaid, A., & Khan, I. H. (2020). Potential antifungal constituents of *Sonchus oleraceus* against *Macrophomina phaseolina*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 24(5), 1376–1382.
- Banaras, S., Javaid, A., & Khan, I. H. (2021). Bioassays Guided Fractionation of *Ageratum conyzoides* Extract for the Identification of Natural Antifungal Compounds against *Macrophomina phaseolina*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 25(4), 761–767.
- Beltrán, B. M., Cerna, C. E., Delgado, O. J. C., & Ochoa, F. Y. M. (2015). Evaluación de la actividad insecticida de *Heliothis longipes* (A. Gray) S. F. Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Trioziidae). *Investigación y Ciencia*, 23(66), 12–15.
- Carmo-Sousa, M., Garcia, R. B., Wulff, N. A., Fereres, A., & Miranda, M. P. (2020). Drench application of systemic insecticides disrupts probing behavior of *diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and inoculation of *candidatus liberibacter asiaticus*. *Insects*, 11(5), 1–12.
- Casimiro, D. A., Fehine, J., Dos Santos, P. F., Castello, M. V. S., De Fátima, M., Subrinho, F. L., Braz-Filho, R., & Da Silva, M. S. (2013). Structural elucidation and NMR assignments of a new pyrrolizidine alkaloid from *Crotalaria vitellina* Ker Gawl. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 51(8), 497–499.
- Castañeda-Ramírez, G. S., Torres-Acosta, J. F. de J., Sandoval-Castro, C. A., Borges-Argáez, R., Cáceres-Farfán, M., Mancilla-Montelongo, G., & Mathieu, C. (2019). Bio-guided fractionation to identify *Senegalia gaumeri* leaf extract compounds with anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* eggs and larvae. *Veterinary Parasitology*, 270, 13–19.
- Cerna, E., Ail, C., Landeros, J., Sanchez, S., Badii, M., Aguirre, L., & Ochoa, Y. (2012). Comparison of toxicity and selectivity of the pest *Bactericera cockerelli* and its predator *Chrysoperla carnea*. *Agrociencia*, 46(8), 783–793.
- Cerna, E., Beltrán, M., Ochoa, Y. M., Hernández, O., & Delgado, J. C. (2021). *Bactericera cockerelli* vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum*, morfometría y haplotipos en poblaciones de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 26, 81–94.
- Chen, T., Mei, N., & Fu, P.P. (2010). Genotoxicity of pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Applied Toxicology*, 30(3), 183–196.
- Cogni, R., & Trigo, J. R. (2016). Pyrrolizidine Alkaloids Negatively Affect a Generalist Herbivore Feeding on the Chemically Protected Legume *Crotalaria pallida*. *Neotropical Entomology*, 45(3), 252–257.
- Cruz-Rodríguez, R. I., Cruz, S. A., Ruiz, L. N., Pérez, V. J. I., Esquinca, A. H. A., & Meza, G. R. (2020). Potential Application of *Crotalaria longirostrata* Branch Extract to Reduce the Severity of Disease Caused by *Fusarium*. *Agronomy*, 10, 1–11.
- Cruz-Rodríguez, R. I., Meza, G. R., Rodríguez, M. M. A., Arias, C. C., Mancilla, M. N. A., et al. (2017). Antifungal activity of *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn. extracts against phytopathogen fungi from maize. *Gayana Botanica*, 74(1), 167–175.
- Dehoux-Baudoin, C., & Génisson, Y. (2019). C-Branched Imino Sugars: Synthesis and Biological Relevance. *European Journal of Organic Chemistry*, 2019(30), 4765–4777.
- Del Prado-Vera, I. C., Franco-Navarro, F., & Godínez-Vidal, D. (2018). Plant Parasitic Nematodes and Management Strategies of Major Crops in Mexico. In S.S. & C.J. (Eds.), *Plant Parasitic Nematodes in Sustainable Agriculture of North America. Sustainability in Plant and Crop Protection*. Springer International Publishing. Pp. 31–68.
- Delgado-Oramas, B. P., González, M. I., Rodríguez, H. M. G., & Pino, P. O. (2020). La resistencia inducida por productos derivados de plantas: alternativa para el manejo de plagas agrícolas. *Revista de Protección Vegetal*, 35(3), 1–12.
- Delgado-Ortiz, J. C., Beltrán-Beache, M., Cerna-Chávez, E., Aguirre-Urbe, L. A., Landero-Flores, J., Rodríguez-Pagaya, Y., & Ochoa-Fuentes, Y. M. (2019). *Candidatus Liberibacter solanacearum* patógeno vascular de solanáceas: Diagnóstico y control. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22, 1–12.
- Díaz, G. J. (2015). Toxicosis by plant alkaloids in humans and animals in Colombia. *Toxins*, 7(12), 5408–5416.
- Dreger, M., Stanislawski, M., Krajewska-Patan, A., Mielcarek, S., Mikolajczak, P. L., & Buchwald, W. (2009). Pyrrolizidine alkaloids - chemistry, biosynthesis, pathway, toxicity, safety and perspectives of medicinal usage. *Herba Polonica*, 55(4), 127–147.

- Esposito, A., D'alonzo, D., De Fenza, M., De Gregorio, E., Tamanini, A., et al. (2020). Synthesis and therapeutic applications of iminosugars in cystic fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 1-34.
- Farag, M., Ahmed, M. H. M., Yousef, H., & Abdel-Rahman, A. A. H. (2011). Repellent and insecticidal activities of *Melia azedarach* L. against Cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Zeitschrift für Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 66 C(3-4), 129-135.
- Farag, S. M., Essa, E. E., Alharbi, S. A., Alfarraj, S., & Abu El-Hassan, G. M. M. (2021). Agro-waste derived compounds (flax and black seed peels): Toxicological effect against the West Nile virus vector, *Culex pipiens* L. with special reference to GC-MS analysis. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5261-5267.
- Fletcher, M. T., McKenzie, R. A., Blaney, B. J., & Reichmann, K. G. (2009). Pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* taxa from Northern Australia: Risk to grazing livestock. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(1), 311-319.
- Fürstenberg-Hägg, J., Zagrobelny, M., & Bak, S. (2013). Plant defense against insect herbivores. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10242-10297.
- Gutiérrez-Ramírez, J. A., Betancourt-Galindo, R., Aguirre-Urbe, L. A., Cerna-Chávez, E., Sandoval-Rangel, A., et al. (2021). Insecticidal Effect of Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles against *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Triozidae) on Tomato *Solanum lycopersicum*. *Agronomy*, 11(8), 1-20.
- Hartmann, T., Theuring, C., Beuerle, T., Ernst, L., Singer, M. S., & Bernays, E. A. (2004). Acquired and partially de novo synthesized pyrrolizidine alkaloids in two polyphagous arctiids and the alkaloid profiles of their larval food-plants. *Journal of Chemical Ecology*, 30(2), 229-254.
- IRAC. (2014). susceptibility test method 032. Insecticide Resistance Action Committee.
- Jiang, H., Wang, J., Song, L., Cao, X., Yao, X., Tang, F., & Yue, Y. (2018). Chemical composition of an insecticidal extract from *Robinia pseudacacia* L. seeds and its efficacy against aphids in oilseed rape. *Crop Protection*, 104, 1-6.
- Jiménez, A. D. M., & Grusak, M. A. (2015). Evaluation of Minerals, Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Mexican, Central American, and African Green Leafy Vegetables. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4), 357-364.
- Joshi, T., Pandey, S. C., Maiti, P., Tripathi, M., Paliwal, A., Nand, M., Sharma, P., Samant, M., Pande, V., & Chandra, S. (2021). Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Vernonia cinerea* against *Xanthomonas oryzae* and identification of their compounds using in silico techniques. *PLoS ONE*, 16(6), 1-15.
- Kolomiets, Y. V., Grygoryuk, I. P., Butsenko, L. M., & Kalinichenko, A. V. (2019). Biotechnological control methods against phytopathogenic bacteria in Tomatoes. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2), 3215-3230.
- Lawal, O., Opoku, A., & Ogunwande, I. (2015). Phytoconstituents and Insecticidal Activity of Different Solvent Leaf Extracts of *Chromolaena odorata* L., against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *European Journal of Medicinal Plants*, 5(3), 237-247.
- Liu, X., Klinkhamer, P. G. L., & Vrieling, K. (2017). The effect of structurally related metabolites on insect herbivores: A case study on pyrrolizidine alkaloids and western flower thrips. *Phytochemistry*, 138, 93-103.
- Lozano, G. J., Salas, L. K. Y., Lara, H. A., España, L. M. P., Balleza, C. J., & Hernández, M. C. A. (2018). *Bactericera cockerelli* Sulc. 1909 (Hemiptera: Triozidae) en doce cultivares de chile en acolchados de color verde y gris- plata, en Morelos, Zacatecas, México. *Entomología Agrícola*, 5, 419-423.
- Macel, M., Bruinsma, M., Dijkstra, S. M., Ooijendijk, T., Niemeyer, H. M., & Klinkhamer, P. G. L. (2005). Differences in effects of pyrrolizidine alkaloids on five generalist insect herbivore species. *Journal of Chemical Ecology*, 31(7), 1493-1508.
- Mala, R., Celsia, R. A. S., Devi, M. S., & Geerthika, S. (2017). Comparison on bactericidal and cytotoxic effect of silver nanoparticles synthesized by different methods. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 225, 1-11.
- Mateos-Maces, L., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Aquino-Bolaños, E. N., Alba-Jiménez, J. E., & Villagómez-González, B. B. (2020). Edible Leafy Plants from Mexico as Sources of Antioxidant Compounds, and Their Nutritional, Nutraceutical and Antimicrobial Potential: A Review. *Antioxidants*, 9(541), 1-24.
- Miranda-Granados, J., Chacón, C., Ruiz-Lau, N., Vargas-Díaz, M. E., Zepeda, L. G., et al. (2018). Alternative use of extracts of Chipilín leaves (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn) as antimicrobial. *Sustainability*, 10(3), 1-7.
- Mutale-joan, C., Redouane, B., Najib, E., Yassine, K., Lyamlouli, K., Laila, S., Zeroual, Y., & Hicham, E. A. (2020). Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12.
- Obembe, O. M., & Kayode, J. (2013). Insecticidal activity of the aqueous extracts of four under-utilized tropical plants as protectant of cowpea seeds from *Callosobruchus maculatus* infestation. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16(4), 175-179.
- Okonkwo, C. O., & Moses, S. E. (2017). Insecticidal Potentials and Chemical Composition of Ethanol Extracts from the Leaves of *Acanthus montanus* on Selected Insect Pests. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 9(10), 111-116.
- Páez-León, S., Carrillo-Morales, M., Gómez-Rodríguez, O., López-Guillén, G., Castañeda-Ramírez, G., Hernández-Núñez, E., Aguilar-Marcelino, L. (2022). Nematicidal activity of leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. against *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. *Journal of Helminthology*, 96, E13.
- Peñaloza, A. G. C., & Peláez, J. C. A. (2014). Evaluación de la actividad biológica de extractos de semillas de *Crotalaria pallida* (cascabelito) sobre el modelo *Drosophila melanogaster*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(3), 144-153.
- Peñaloza, A. G. C., & Peláez, J. C. A. (2017). Aislamiento del estigmasterol de las semillas de *Crotalaria juncea* L. (cascabelito) y su bioactividad sobre *Drosophila melanogaster*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(3), 1-10.
- Prada, F., Stashenko, E. E., & Martínez, J. R. (2020). LC/MS study of the diversity and distribution of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* species growing in Colombia. *Journal of Separation Science*, 43(23), 4322-4337.
- Rafiq, M., Javaid, A., & Shoaib, A. (2021). Antifungal activity of methanolic leaf extract of *Carthamus oxyantha* against *Rhizoctonia solani*. *Pakistan Journal of Botany*, 53(3), 1133-1139.
- Ramesh, N. G. (2020). Iminosugars. In *Carbohydrates in Drug Discovery and Development* Elsevier Inc. Pp. 331-381.
- Ravi, R., Husna Zulkarnin, N. S., Rozhan, N. N., Nik Yusoff, N. R., Mat Rasat, M. S., et al. (2018). Evaluation of Two Different Solvents for *Azolla pinnata* Extracts on Chemical Compositions and Larvicidal Activity against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Chemistry*, 2018, 1-8.
- Rech, C., Ribeiro, L. P., Bento, J. M. S., Pott, C. A., & Nardi, C. (2022). Monocrotaline presence in the *Crotalaria* (Fabaceae) plant genus and its influence on arthropods in agroecosystems. *Brazilian Journal of Biology*, 84, 1-14.
- Rivera-Martínez, R., Ramírez-Dávila, J. F., & Acosta-Guadarrama, A. D. (2018). Distribución espacial de las poblaciones de huevos de *Bactericera cockerelli* Sulc. en el cultivo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Acta Universitaria*, 28(5), 24-33.
- Robinson, B., & Gummow, B. (2015). A field investigation into a suspected outbreak of pyrrolizidine alkaloid toxicosis in

- horses in western Queensland. *Preventive Veterinary Medicine*, 118(4), 378–386.
- Roque-Enriquez, A., Delgado-Ortiz, J.C., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y.M., & Cerna-Chávez, E. (2021). Parámetros agronómicos del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculado con "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" y tratados con fosfitos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8(1), e2552.
- Romeh, A.A. (2013). Phytochemicals from *Ficus sycamorus* L. leaves act as insecticides and acaricides. *African Journal of Agricultural Research*, 8(27), 3571–3579.
- Rovira, D., Alfaro, C., Martínez, V., & Menjivar, I. (2019). Respiration rate and shelf-life study of *Crotalaria longirostrata* (chipilín). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 3025–3032.
- Schramm, S., Köhler, N., & Rozhon, W. (2019). Pyrrolizidine alkaloids: Biosynthesis, biological activities and occurrence in crop plants. *Molecules*, 24(3), 1–44.
- Sedivy, C., Dorn, S., Widmer, A., & Müller, A. (2013). Host range evolution in a selected group of osmiine bees (Hymenoptera: Megachilidae): the Boraginaceae-Fabaceae paradox. *Biological Journal of the Linnean Society*, 108(2), 349–360.
- Solihah, I., Mardiyanto, M., Fertilita, S., Herlina, H., & Charmila, O. (2018). The Standardization of Ethanolic Extract of Tahongai Leaves (*Kleinhovia hospita* L.). *Science and Technology Indonesia*, 3(1), 14–18.
- Shukla, E., Thorat, L. J., Nath, B. B., & Gaikwad, S. M. (2015). Insect trehalase: Physiological significance and potential applications. *Glycobiology*, 25(4), 357–367.
- Sumner, K. J. C., Highet, F., Arnsdorf, Y. M., Back, E., Carnegie, M., Madden, S., et al. (2020). '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' distribution and diversity in Scotland and the characterisation of novel haplotypes from *Craspedolepta* spp. (Psyllidae: Aphalaridae). *Scientific Reports*, 10(1), 1–12.
- Tamburino, R., Sannino, L., Cafasso, D., Cantarella, C., Orrù, L., Cardi, T., et al. (2020). Cultivated Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Suffered a Severe Cytoplasmic Bottleneck during Domestication: Implications from Chloroplast Genomes. *Plants*, 9, 1–15.
- Tay, Z. H., & Chong, K. P. (2016). The potential of papaya leaf extract in controlling *Ganoderma boninense*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 36, 1–7.
- Tlak Gajger, I., & Dar, S. A. (2021). Plant allelochemicals as sources of insecticides. *Insects*, 12(3), 1–21.
- Tucuch-Haas, I. J., Silva-Aguayo, G., & Rodríguez-Maciél, C. J. (2020). Oviposition of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) on *Capsicum chinense* (Jacq) treated with spiromesifen or spirotetramat. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 43(3), 317–323.
- Tucuch-Haas, J. I., Rodríguez-Maciél, C. J., Lagunes-Tejeda, Á., Silva-Aguayo, G., Aguilar-Medel, S., Robles-Bermudez, A., & González-Camacho, J. M. (2010). Toxicidad de spiromesifen en los estados biológicos de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Neotropical Entomology*, 39(3), 436–440.
- Vereijssen, J., Smith, G. R., & Weintraub, P. G. (2018). *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and *Candidatus liberibacter solanacearum* in potatoes in New Zealand: Biology, transmission, and implications for management. *Journal of Integrated Pest Management*, 9(1), 1–21.
- Ya'kobovitz, M. K., Butters, T. D., & Cohen, E. (2016). Inhibition of α -glucosidase activity by N-deoxynojirimycin analogs in several insect phloem sap feeders. *Insect Science*, 23(1), 59–67.
- Zhu, G., Wang, S., Huang, Z., Zhang, S., Liao, Q., Zhang, C., et al. (2018). Rewiring of the Fruit Metabolome in Tomato Breeding. *Cell*, 172(1–2), 249–261.e12.



Insecticidal effect of the methanolic extract of *Argemone mexicana* for the control of *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae)

Efecto insecticida del extracto metanólico de *Argemone mexicana* para el control de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae)

Delgado-Ortiz, J.C.¹, López-López, H.², Beltrán-Beache, M.³, Ochoa-Fuentes, Y.M.², Cerna-Chávez, E.², Castro del Ángel, E.^{2*}

¹ Catedrático Conacyt-UAAAN, Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

² Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

³ Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agropecuarias-Departamento de Ciencias Agronómicas. Posta Zootécnica, C.P. 20700. Jesús María, Aguascalientes, México.



Please cite this article as/Como citar este artículo: Delgado-Ortiz, J.C., López-López, H., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y.M., Cerna-Chávez, E., Castro del Ángel, E. (2023). Insecticidal effect of the methanolic extract of *Argemone mexicana* for the control of *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Revista Bio Ciencias*, 10 e1404. <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1404>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: August 22th 2022.

Accepted/Aceptado: April 1st 2023.

Available on line/Publicado: April 25th 2023.

ABSTRACT

Argemone mexicana L. is a weed, which is used as a medicinal plant. The biological activity of this plant has been observed on pathogens such as viruses, fungi, bacteria, protozoa, and agricultural crop pests; such activity is attributed to compounds such as flavonoids, glycosides, terpenoids, phenolic compounds, and alkaloids present in the plant. The study aimed to evaluate the effect of the methanolic extract of *A. mexicana* as an insecticide on *Bactericera cockerelli*. Thirteen metabolites were detected by gas chromatography coupled to mass spectrometry; six were reported to have biological activity; the compound identified as 5,7,8,15-Tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl[1,3]benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-one is the second most abundant and is a benzyloquinoline alkaloid. The observed mortality at 48 h was 83.6 and 83.9 % dependent on the high doses of 20 and 30 mg/mL; while at 72 h an increase in mortality up to 97.2 % was observed at concentrations of 8-30 mg/mL. LC₅₀ was 7.63 mg/mL and an LC₉₅ of 107.98 mg/mL. Analysis of the methanolic extract of *A. mexicana* leaves revealed that it can be used as a plant-derived insecticide by causing mortality in *B. cockerelli* nymphs.

KEY WORDS: Alkaloid; benzyloquinoline; chicalote; mortality; tomato psyllid.

*Corresponding Author:

Epifanio Castro del Ángel. Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, CP. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Telefono: (844) 110 200. E-mail: epifaniocastrodelangel@hotmail.com

RESUMEN

Argemone mexicana L. es una maleza, la cual es utilizada como planta medicinal. La actividad biológica de esta planta se ha observado en patógenos como virus, hongos, bacterias, protozoos y plagas de cultivos agrícolas; dicha actividad se atribuye a compuestos como flavonoides, glucósidos, terpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides presentes en la planta. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del extracto metanólico de *A. mexicana* como insecticida sobre *Bactericera cockerelli*. Se detectaron 13 metabolitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas; siendo seis los que tienen reporte de actividad biológica; el compuesto identificado como 5,7,8,15-Tetrahydro-3,4-dimetoxi-6-metil[1,3]benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-ona es el segundo con mayor abundancia y es un alcaloide de bencilisoquinolina. La mortalidad observada a las 48 h fue de 83.6 y 83.9 % dependiente de las dosis altas de 20 y 30 mg/mL; mientras que a las 72 h se observó un aumento de la mortalidad hasta en un 97.2 % a las concentraciones de 8-30 mg/mL. La concentración letal media fue de 7.63 mg/mL y una LC₉₅ de 107.98 mg/mL. El análisis del extracto metanólico de las hojas de *A. mexicana* reveló que puede ser empleado como insecticida de origen vegetal al causar mortalidad en ninfas de *B. cockerelli*.

PALABRAS CLAVE: Alcaloide, bencilisoquinolina, chicalote, mortalidad, psílido del tomate.

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a widely cultivated vegetable in the world due to its nutritional and socioeconomic importance (Yu *et al.*, 2017; Tamburino *et al.*, 2020). A challenge sampled in tomato production is pest infestation in temperate, subtropical, and tropical regions worldwide (Fuentes *et al.*, 2017), which generates losses in yields and fruit quality (Liu and Wang, 2020).

The insect *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Trioizidae) known as tomato and potato psyllid is a pest of some Solanaceae such as eggplant, chili, potato, and husk tomato (Tang *et al.*, 2020). The main damage results from the transmission of toxins that affect plant growth (Sumner *et al.*, 2020), and indirectly it is a carrier of the bacterium *Candidatus Liberibacter solanacearum* associated with tomato perennial disease (García-Sánchez *et al.*, 2021, Roque-Enríquez *et al.*, 2021). The inadequate use of chemical insecticides has led to negative effects on *B. cockerelli* populations as they are used up to 12 times in the crop cycle; far from improving plant health, this leads to the potential selection of insect resistance and high costs for production (Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2021).

Only one percent of the total insecticides applied in agricultural areas attack the target pest, the rest is persistent in water, soil, and air; to reduce adverse effects, safer alternatives for pest and disease management should be considered (Koul *et al.*, 2004). The search for natural insecticides from wild plant species is promising for use as bioactive substances, but there is also a need for these tests to have more practical applications for production systems and bring socioeconomic benefits to producers (Tembo *et al.*, 2018). Dougoud *et al.* (2019) report that about 235 plant families (2,500 species) on the planet possess biological action against pests through plant extracts that exhibit active principles with repellent, antifeedant, and insecticidal properties.

The species *Argemone mexicana* L. considered a broadleaf weed, is called chicalote, belonging to the Papaveraceae family (Andleeb *et al.*, 2020, Manalil & Chauhan, 2019), and is one of the 25 species of the genus *Argemone* with high alkaloid content (Xool-Tamayo *et al.*, 2021). This species can be found widely distributed in open fields or along roadsides. Due to its high content of oils in the seed and alkaloids in the whole plant (Martínez-Delgado *et al.*, 2022), in Mexico, it is used as a medicinal plant for the treatment of diseases such as asthma, ulcers, intestinal infections, and cancer (Das *et al.*, 2011; Elizondo-Luévano *et al.*, 2018; Datkhile *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2021).

The biological activity of this plant has been observed on pathogens such as viruses, fungi, bacteria, and parasitic protozoa (Elizondo-Luévano *et al.*, 2018; Andleeb *et al.*, 2020), such antimicrobial activity is attributed to compounds such as flavonoids, glycosides, terpenoids, phenolic compounds, and alkaloids (More *et al.*, 2017). Actions against agricultural crop pests such as *Bemisia tabaci*, *Spodoptera frugiperda*, *Aphis gossypii*, and *Tribolium castaneum* have also been reported (Granados-Echegoyen *et al.*, 2019; Miranda-Arámbula *et al.*, 2021; Martínez-Delgado *et al.*, 2022), however, evidence is limited due to the lack of trials on different pests and crops. Therefore, this study aimed to identify the compounds of the methanolic extract of the leaves of *A. mexicana* species, as well as to evaluate their biocidal activity on *B. cockerelli* nymphs.

Material and Methods

***Bactericera cockerelli* (Sulc.) colony**

The insects came from potato and tomato crops collected in 2018 in Coahuila and Nuevo León (Mexican states). Colonies were established in a greenhouse from the Department of Parasitology, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, and placed in wooden cages (50 cm long x 50 cm wide x 80 cm high) covered with organza fabric with 40 mm pore size, at 22 °C with a photoperiod of 14:10 h (Light/Dark) with tomato plants Rio Grande variety (Roque-Enríquez *et al.*, 2021).

Sampling and obtaining an extract of *Argemone mexicana* L.

The collection was performed as described by Bobi *et al.* (2015), with modifications, in brief, whole plants were placed in paper bags for transport, and sampling was performed in the municipality of Saltillo, Coahuila, Mexico. The taxonomic identification of the plant was performed by Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla and included in the ANSM herbarium of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro with number 103807. Then, only leaves with the following characteristics of *A. mexicana* were selected: leaves with toothed margins, spine ends, intense green color, slightly glaucous tone, and whitish lines; and were left to dry in the shade for ten days, then ground in a blender (Waring Commercial, model 7011s) and immersed in 96 % methanol (Meyer, CDMX, Mexico) for seven days (at a ratio of 1 g dry matter mL⁻¹ of solvent), with constant agitation at room temperature (yield 84 % v/v). The extract was vacuum filtered with Whatman No. 1 paper and stored in an amber bottle at 4 °C until use.

Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) analysis.

The gas chromatography process was performed in the Biogeochemistry laboratory (UBIPRO) at the Universidad Nacional Autónoma de México, Iztacala, México. The compounds present in the *A. mexicana* leaf extract were determined in a 6850 gas chromatograph (Aligent, Santa Clara, California), using an HP-5MS column (Aligent, Santa Clara, California) of 30 m × 250 µm diameter and 0.25 µm film; the oven was programmed for 2 min at 150 °C, then increased 10 °C per min until 300 °C was reached for 4 min; Helium was used in the mobile phase at a flow rate of 1 mL min⁻¹. It was coupled to a 5975C mass spectrometry detector (Aligent Technologies, USA) at 200 °C for 2 min, an ionization source was 230 °C and a quadrupole temperature of 150 °C (at 70 eV ionization); it was conditioned for a full scan over a mass range of 35 to 400 m/z⁻¹. The identification of the compounds was established based on its mass spectra analysis using the National Institute of Standards and Technology (NIST version 08 MS) database.

Relative density

The present study was performed as described by López-López *et al.* (2022, with modifications), from the methanolic extract of *A. mexicana* leaves, with a 25 mL Gay-Lussac pycnometer (Brand 16038, Germany) at 22 °C, the density of the extract was calculated by the formula:

$$\text{Relative density} = \frac{(m_1 - m)}{m_2 - m} * d_{22}^t$$

Where: m is the mass of the empty pycnometer (g), m₁ is the mass of the pycnometer with the test sample (g), m₂ is the mass of the pycnometer with water (g), d₂₂^t is the density of water at 22 °C (0.997772 g cm⁻³). Results are expressed in mg mL⁻¹ for the preparation of concentrations from the extract.

Bioassay against *B. cockerelli*

Using the methanolic extract of leaves of *A. mexicana*, a window of biological activity was obtained at concentrations of 0, 10, 20, 40, 60, 80, and 100 mg/mL, an absolute control with distilled water. Susceptibility test number 032 version 1 of the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC, 2014) with modifications was used. Due to the high mortality obtained in the biological window, seven concentrations were established at 2, 4, 8, 12, 16, 20, and 30 mg/mL; for which a leaf of saladette tomato Rio Grande variety with 11 nymphs of the 4th instar of *B. cockerelli* was submerged in each concentration; likewise, a leaf with nymphs was submerged in distilled water as absolute control for 5 s, allowed to dry and then placed in Petri dish with filter paper soaked with sterile distilled water. Four replicates were placed for each concentration and the absolute control. The test was kept with a 14:10 h photoperiod (light/dark) at 23 °C. The evaluation of mortality was carried out every 24 h after the application of the extract. A stereoscopic microscope (Carl Zeiss Stemi DV4) was used to verify the number of dead nymphs, considering the nymphs as dead when they did not show coordinated movement by physical stimulation with a brush.

Data analysis

Results were expressed as percentage mortality and mortality was adjusted using Abbott's formula (Abbott, 1925). A Probit analysis was performed with the mortality corrected for the concentration-mortality curve and the lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₅) were recorded. Finally, the data were evaluated by an analysis of variance and the mean values were compared by Tukey's test ($p \leq 0.05$), under a completely randomized design. All the above analyses were performed using Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 statistical software (SAS Institute, 2002).

Results and Discussion

Chromatographic analysis (GC-MS) of *A. mexicana* yielded 13 compounds (two saturated fatty acids, five unsaturated fatty acids, one terpene, two alcohols, and three alkaloids) (Table 1); seven of these compounds possess biological activity reported in the literature, which are 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 12. Being the most abundant in the extract the 9,12,15-Octadecatrienoic acid and the second with 19.45 % was the alkaloid 5,7,8,15-Tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl[1,3]benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-one.

In this context, the choice of solvents for the extraction of active compounds has an important role in the discovery of new compounds for the control of pests and diseases (Andleeb *et al.*, 2020). The techniques involved in the production of bioactive extracts or fractions from plants are usually the same, and the primary steps for this purpose are the selection of appropriate solvents (polar, intermediate polar, and non-polar), extraction procedures, and identification techniques (Abubakar and Haque, 2020). It has been observed that aqueous and ethanolic extracts have the function of protecting crops from pests (Tavares *et al.*, 2021). Furthermore, plant extracts based on ethanol, methanol, petroleum ether, ethyl acetate, dichloromethane, chloroform, and water protect plants from fungi (Choudhury *et al.*, 2018).

Phytochemical compounds metabolized in plants are mainly stored in plant cell vacuoles, compounds such as steroids, terpenes, and in greater abundance phenolics (including alkaloids) have been recognized; depending on their concentration and extraction technique, excellent biopesticidal properties have been achieved (Jiménez-Reyes *et al.*, 2019). *A. mexicana* exhibits insecticidal activity from different extracts based on ethyl acetate, acetone, methanol, and hexane by direct extraction. Elango *et al.* (2012) report higher extraction yield in *A. mexicana* leaves with methanol (10.2 mg/g leaf) compared to acetone, ethyl acetate, and hexane (5.5, 5.3, and 3.1 mg/g leaf, respectively).

Table 1. Phytochemical compounds from methanolic extract of *A. mexicana*.

	Compound	CAS ¹	Reference	Rt ²	Area %
1	Hexadecanoic acid, methyl ester	000112-39-0	113690	11.99	1.88
2	n-Hexadecanoic acid	000057-10-3	102726	12.78	12.35
3	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	000112-63-0	132273	14.61	1.65
4	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	0007361-80-0	130794	14.70	4.08
5	Phytol	000150-86-7	133807	14.99	1.15
6	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	000463-40-1	119801	15.35	27.07
7	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	001191-41-9	141488	15.39	8.94
8	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	000463-40-1	119801	15.44	14.02
9	Erinine, 21-deoxo-23-hydroxy-, (23 alpha.)-	016843-68-8	188374	21.45	4.37
10	2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis (1,1-dimethyl ethyl)-4-hydroxy-	054965-43-4	76340	22.09	0.75
11	(+)-Canadine	000522-97-4	164694	23.03	1.77
12	[1,3]Benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-one,5,7,8,15-tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl-	000485-91-6	182195	23.27	19.45
13	2,4-Cyclohexadien-1-one, 3,5-bis (1,1-dimethyl ethyl)-4-hydroxy-	054965-43-4	76340	23.72	1.82

¹ CAS: Chemical Abstracts Service; ² RT: Retention time in minutes.

The result of the metabolites identified in Table 1, helped to determine that certain compounds have been previously reported with the following biological activities: hexadecanoic acid methyl ester detected in the methanolic extract of *Azolla pinnata* showed an insecticidal effect on 4th instar larvae of *Aedes albopictus* (Ravi et al., 2018). The n-hexadecanoic acid, identified in the dichloromethane extract of *Ficus sycomorus*, was effective in repelling females of *Tetranychus urticae*, *Aphis craccivora*, and *Sitophilus oryzae* (Romeh, 2013). 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)- and 9,12,15-octadecatrienoic acid (Z,Z,Z,Z)- methyl esters present in the petroleum ether fraction of *Robinia pseudoacacia* manifested insecticidal effects on *Brevicoryne brassicae* and *Aphis gossypii* (Jiang et al., 2018).

As for phytol, it has been reported in the ethanolic extract of *Petiveria alliacea* as the main metabolite with insecticidal activity against *Bemisia tabaci* nymphs (Cruz-Estrada et al., 2013). The most biologically active compound in *A. mexicana* extract has been 9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z,Z)-, which is reported in ethyl acetate extract of *Moringa oleifera* as an inhibitor in egg hatching and mortality of 3rd instar nymphs of *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans* (Páez-León et al., 2022). Finally, the alkaloid 5,7,8,15-Tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl[1,3] benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-one obtained from the aqueous extract of *A. mexicana*, showed antiparasitic activity on *Plasmodium falciparum* (Simoes-Pires et al., 2014). However, there is not enough information about the biological activity of this alkaloid against relevant agricultural pests including the orders Thysanoptera, Hemiptera, Homoptera, Coleoptera, Diptera, and Lepidoptera.

The test with a methanolic extract of *A. mexicana* leaves on *B. cockerelli* nymphs showed a 67% of mortality at the concentration of 20 mg/mL in 24 h (Table 2); at the concentrations of 20 and 30 mg/mL, the maximum mortality was observed at 48 and 72 h up to 97.3%. The mean lethal concentration (LC₅₀) indicated by the mortality data for the methanolic extract of *A. mexicana* at 48 h was 7.63 mg/mL and LC₉₅ was 107.98 mg/mL with $p \leq 0.05$ (Table 3).

Authors such as Danga et al. (2015) and Kosini et al. (2021) suggested that the presence of alkaloids and other secondary metabolites in plant extracts could lead to loss of extract activity during fractionation. This leads to the need to combine solvents, resulting in high production costs and potentially harmful effects on humans and the environment.

Within the genus *Argemone*, several alkaloids have been recognized in different plant tissues as frequent metabolites with medicinal and cytotoxic properties. Synthesized from amino acids, the alkaloids are highly reactive in nature and biologically active in a wide variety of organisms (Brahmachari et al., 2013; Dey et al., 2020).

Table 2. Effect of methanolic extract of *A. mexicana* on mortality of *B. cockerelli* nymphs.

Treatments (mg/mL)	Hours after the application ¹		
	24	48	72
Control	0 ± 0 d	0 ± 0 d	0 ± 0 c
2	16.6 ± 8.67 cd	29.9 ± 17.06 c	55.5 ± 15.72 b
4	16.6 ± 4.48 cd	26.4 ± 18.91cd	55.6 ± 31.43 b
8	28.9 ± 21.92 bcd	46.1 ± 14.45 bc	75 ± 16.66 ab
12	23.9 ± 23.29 cd	54.2 ± 9.49 bc	86.1 ± 10.64 ab
16	45.5 ± 20.45 abc	61.9 ± 14.86 ab	88.9 ± 9.07 ab
20	67.05 ± 15.75 a	83.6 ± 6.75 a	94.4 ± 6.41 a
30	64.3 ± 12.27 ab	83.9 ± 5.84 a	97.2 ± 5.55 a
<i>p</i> valor	0.0001	0.0001	0.0001

Data represent mean mortality per treatment. ¹ Lowercase letters in each column indicate significant differences, according to Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Table 3. The lethal concentration of methanolic extract of *A. mexicana* on nymphs of *B. cockerelli*.

Hours after the application	Median lethal dose (LC) (mg/mL)		Regression equation	Coefficient of determination
	LC ₅₀	LC ₉₅		
24	17.96	309.63	Y = -1.6690x + 1.3304	0.841
48	7.63	107.98	Y = -1.2608x + 1.4291	0.897
72	2.25	28.97	Y = -0.5230x + 1.4828	0.819

The median lethal dose in mg/mL.

The process of benzylisoquinoline alkaloid (BIA) biosynthesis in the genus *Argemone*, begins with enzymatic reactions that are first regulated by cytochrome P450 (CYP450) proteins of the CYP719 family; which catalyze tyrosine with tyrosine/DOPA decarboxylase (TYDC) to form dopamine, (S)-norcoclaurine synthase (NCS) and monophenol oxygenase condense to yield 4-hydroxyphenyl acetaldehyde (4HPPA) (Liscombe & Facchini, 2008; Rubio-Pina & Vázquez-Flota, 2013). From 4HPPA the compound (S)-norcoclaurin is formed by interference of norcoclaurin synthase (NCS), then, by methylation and hydroxylation, (S)-reticulín is obtained by the participation of (RS)-norcoclaurin 6-O-methyltransferase (6OMT), (S)-coclaurin-N-methyltransferase (CNMT),

3'-hydroxy-N-methyl-(S)-coclaurin 4'-O-methyltransferase (4OMT) and N-methylcoclaurin 3'-hydroxylase (NMCH) (Rubio-Pina & Vázquez-Flota, 2013; Takemura *et al.*, 2013).

Starting from the precursor (S)-reticulín, allocryptopín (AL) is synthesized by the berberine bridge enzyme (BBE), CYP719A2 (S)-escoulerin 9-O-methyltransferase (SMT), tetrahydro protoberberine-N-methyltransferase (TNMT) and methyltetrahydroprotoberberine 14-monooxygenase (MTMO) (De-La-Cruz Chacón *et al.*, 2012; Takemura *et al.*, 2013). The structural core of AL is a protopín, which is derived from the protoberberine metabolic pathway (Marek *et al.*, 1998; Beaudoin & Facchini, 2014).

Compound 12 is 5,7,8,15-Tetrahydro-3,4-dimethoxy-6-methyl[1,3]benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-one, a compound described under the common name allocryptopín (Sakai *et al.*, 1988; Brahmachari *et al.*, 2013; Nigdelioglu-Dolanbay *et al.*, 2021) present in the genus *Argemone* (Elizondo-Luévano *et al.*, 2018) and in the *A. mexicana* species (Vacek *et al.*, 2010; Simoes-Pires *et al.*, 2014; Gobato *et al.*, 2015) where up to 25 BIA have been identified (Elizondo-Luévano *et al.*, 2018). AL belongs to the group of true isoquinoline alkaloids, in the classification of BIAs derived from the aminoacids phenylalanine and tyrosine (Dey *et al.*, 2020). It is found with higher accumulation in leaves of *A. mexicana* (Díaz-Chavez *et al.*, 2011; Martínez-Delgado *et al.*, 2022) and about 2,500 ABIs have been identified so far in various families, including Papaveraceae (Vacek *et al.*, 2010).

The mechanisms described for BIAs involve inhibition of DNA replication by generating double-strand breaks at DNA replication sites, causing cytotoxicity (Inoue *et al.*, 2021), inhibition of acetylcholinesterase (Houghton *et al.*, 2006), inhibition of cytochrome P450 enzymes (Menéndez-Perdomo & Facchini, 2018) and anti-herbivory due to low nutritional input to the insect (Lee *et al.*, 2013).

Despite generalist and specialist insects have developed detoxification mechanisms on secondary metabolites or foreign substances, through specific enzymes produced by cytochrome P450, esterases, and glutathione S-transferases in the insect midgut, to achieve immediate suppression of toxic substances (Schuler, 1996). BIAs possess certain properties that limit their detoxification in insects as mentioned above.

In addition, organic solvents are effective for diffusion in plant tissues and entrain aromatic secondary metabolites of similar polarity; which have the potential to interact in alteration or disruption of the cell membrane, inactivation or deprivation of enzyme-substrate, interaction with DNA, insect nerve cells, inhibition in oviposition, egg hatching, and form disulfide bridges in secretory proteins which help insects in oxidative stress (Gurjar *et al.*, 2012; Lengai *et al.*, 2020). This may explain the effect on mortality mentioned below.

The methanolic extract based on leaves of *A. mexicana* caused mortality of *Coptotermes formosanus* larvae at 24 and 48 h (58 and 71 %, respectively) from 2 mg/mL (Elango *et al.*, 2012). Petroleum ether extract of *A. mexicana* leaves exhibited insecticidal activity with an LC₅₀ of 48.89 ppm at 48 h on third instar larvae of *Culex quinquefasciatus* (Sakthivadivel *et al.*, 2012). It was also demonstrated that leaves of *A. mexicana* in 5 % (w/v) aqueous solution generated on *B. tabaci* the reduction of the population at the end of the experiment by 20.57 %, in tomatoes

under greenhouse (Martínez-Tomás *et al.*, 2015). These results demonstrate that polar solvents extract secondary metabolites from *A. mexicana* leaves and are biologically active against insects. Similarly, the effect of AL on *T. cruzi* was demonstrated with an LC_{50} of 32 mg/mL (Simoes-Pires *et al.*, 2014). This indicates that the biological activity of *A. mexicana* reported as an organic extract has the potential for agricultural pest control.

However, there is no information available on alocriptopine BIA assays with insecticidal activity; however, the effects on humans have been studied as hepatoprotective, antithrombotic, anti-inflammatory, antitussive, anticancer, antiparasitic, and antibacterial activity (Beaudoin & Facchini, 2014; Huang *et al.*, 2018).

In addition, it was reported that tylamosin an BIA isolated from *Tiliacora acuminata*, affected *Culex quinquefasciatus* eggs by up to 91 % at 120 h and in larvae presented significant midgut cell damage; as well as several different movements of larvae compared to the control. This was caused by the inhibition of acetylcholinesterase (AChE), increasing acetylcholine in the insect synapse, leading to decreased electrical impulses and activation of excitatory postsynaptic receptors resulting in paralysis and death (Matsuura & Fett-Neto, 2015; Sandhanam *et al.*, 2019). *Argemone platyceras* plant expresses the compound munitagin, an BIA that inhibits AChE, butyrylcholinesterase (BChE) and prolyl oligopeptidase (POP), and AL exhibited weak activity on AChE and POP (Siatka *et al.*, 2017). Also, BIA sanguinarine was shown to block the transcription of α -amylase, serine protease, and lipase enzymes in the midgut of *Lymantria dispar* larvae, reflecting an antifeedant effect and decreased insect survival (Zou *et al.*, 2019).

It has been recognized that BIAs such as sanguinarine, protoberine, benzophenanthridine, berberine, phenanthridine, and ungeremine can inhibit nucleic acid synthesis by targeting dihydrofolate reductase and Z-ring proteins involved in cell division (Matsuura & Fett-Neto, 2015). Likewise, the assay performed by Quiroz-Carreño *et al.* (2020) on *Drosophila melanogaster* and *Cydia pomonella* larvae, with four ABIs (boldine, coclaurin, pukatein, and laurilitsin) showed a mortality of 80 %; possibly caused by the coupling of the heterodimer of the ecdysone and octopamine receptor, which interacts with the hormonal system of insects to modulate in an agonistic way the BIAs with selective insecticidal action.

As shown in Table 3, the LC_{50} decreased from 57.5 % to 87.5 % at 48 and 72 h, respectively. This indicates that the 13 compounds identified in the methanolic extract of *A. mexicana* leaves could be interacting at sensitive sites in the insect body as the concentration of the extract increases and accumulates with exposure time; through the decrease of enzymes secreted by the insect as a protective mechanism and growth regulators (Al-Rashidi *et al.*, 2022).

In the mortality study of Anon & Adday (2020), using an alkaloid-based extract of *Datura innoxia* leaves on 4th instar larvae of *C. quinquefasciatus*, the mean inhibitory concentration was 31.4 % and 62.4 % higher compared to extracts with turbine compounds and phenols. However, exposure at 24 h resulted in very similar mortality rates from 60 % to 70 %, with no statistically significant differences observed. This is possible since alkaloids also act on tubulin polymerization during mitosis, causing toxicity, a disturbance of sugar-metabolizing enzymes, and generating alterations in the physiological processes of the insect (Bhambhani *et al.*, 2021). As well as a

specific blockade of calcium channels of the sarcoplasmic reticulum in muscle cells causing paralysis, cardiac arrhythmia, and death of the insect (Alves *et al.*, 2019).

Conclusions

The results of the present GC-MS study showed that compound 12 (belonging to the BIA group), is the second most abundant compound in the methanolic extract of *A. mexicana* leaves. Seven secondary metabolites (1, 2, 3, 4, 5, 6, and 12) were identified in the methanolic extract of *A. mexicana* leaves with biological activity. The methanolic extract of *A. mexicana* leaves exhibited 83.9 % of mortality at 48 h in *B. cockerelli* nymphs at concentrations 20 and 30 mg/mL, with an LC₅₀ of 7.63 mg/mL and an LC₉₅ of 107.98 mg/mL. The leaf extract of *A. mexicana* showed an insecticidal effect to be used as biocontrol of *B. cockerelli*.

Contribution of the authors

JCDO and HLL conceived, designed, and conducted the investigation. JCDO, HLL and ECA; in participation with MBB, performed the data analysis and interpretation. HLL prepared the manuscript with the support of JCDO, YMOF, and ECC. All authors contributed to the discussion, revision, and acceptance of the final manuscript.

Acknowledgements

Thanks are extended to Juan Carlos Delgado Ortiz for financial support from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (programa Investigadoras e Investigadores por México Proyecto 1048) and to Henry López López (777528) for his doctoral scholarship.

Conflict of interest

The authors declare having no conflict of interest.

References

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(1), 1. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Al-Rashidi, H. S., Mahyoub, J. A., Alghamdi, K. M., & Mohammed Al-Otaibi, W. (2022). Seagrasses extracts as potential mosquito larvicides in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(12), 9. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103433>
- Alves, D. S., Fernandez, P. C. G., Martin, A. M., Budia, F., Carvalho, G. A., Zanetti, R., & de Oliveira, D. F. (2019). Toxicity of alkaloid fractions from *Psychotria* spp. (Rubiaceae) against

- Atta sexdens* forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). *Cerme*, 25(2), 255–262. <https://doi.org/10.1590/01047760201925022632>
- Andleeb, S., Alsalmeh, A., Al-Zaqri, N., Warad, I., Alkahtani, J. & Bukhari, S. M. (2020). *In-vitro* antibacterial and antifungal properties of the organic solvent extract of *Argemone mexicana* L. *Journal of King Saud University – Science*, 32(3), 2053-2058. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.01.044>
- Anon, M. R., & Adday, W. A. (2020). Biological effective of crude secondary compounds of Leaves *Datura innoxia* in the Non-cumulative for mortality of Immature insect *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera:Culicidae). *Journal of Physics: Conference Series*, 1664, 112. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1664/1/012112>
- Beaudoin, G. A. W. & Facchini, P. J. (2014). Benzylisoquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy. *Planta*, 240, 19-32. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2056-8>
- Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. (2021). Diversity in chemical structures and biological properties of plant alkaloids. *Molecules*, 26(11), 106. <https://doi.org/10.3390/molecules26113374>
- Bobi, A. H., Bandiya, M. H., Suleiman, M. & Usman, M. (2015). Evaluation of insecticidal efficacy of some selected plants leaf-ethanol extracts against *Musca domestica* L. [Diptera: Muscidae]. *Entomology and Applied Science Letters*, 2(1), 23-28. <https://easletters.com/article/zxkd-evaluation-of-insecticidal-efficacy-of-some-selected>
- Brahmachari, G., Gorai, D. & Roy, R. 2013. *Argemone mexicana*: chemical and pharmacological aspects. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 23(3), 559-575. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000021>
- Choudhury, D., Dobhal, P., Srivastava, S., Saha, S., & Kundu, S. (2018). Role of botanical plant extracts to control plant pathogens-a Review. *Indian Journal of Agricultural Research*, 52(4), 341–346. <https://doi.org/10.18805/IJARE.A-5005>
- Cruz-Estrada, A., Gamboa-Angulo, M., Borges-Argáez, R. % Ruiz-Sánchez, E. 2013. Insecticidal effects of plant extracts on immature whitefly *Bemisia tabaci* genn. (Hemiptera: Aleyroideae). *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(1), 1-9. <https://doi.org/10.2225/vol16-issue1-fulltext-6>
- Danga, S. P. Y., Nukenine, E. N., Younoussa, L., Adler, C., & Esimone, C. O. (2015). Efficacy of *Plectranthus glandulosus* (Lamiaceae) and *Callistemon rigidus* (Myrtaceae) leaf extract fractions to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Insect Science*, 15(1), 139. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev117>
- Das, P., Pillai, S., Kar, D., Pradhan, D. & Sahoo, S. (2011). Pharmacological efficacy of *Argemone mexicana* plant extract, against cysteamine-induced duodenal ulceration in rats. *Indian Journal of Medical Sciences*, 65, 92-99. <https://doi.org/10.4103/0019-5359.104788>
- Datkhile, K. D., Patil, S. R., Durgawale, P. P., Patil, M. N., Hinge, D. D., Jagdale, N. J., Deshmukh, V. N. & More, A. L. (2021). Biogenic synthesis of gold nanoparticles using *Argemone mexicana* L. and their cytotoxic and genotoxic effects on human colon cancer cell line (HCT-15). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19, 9. <https://doi.org/10.1186/s43141-020-00113-y>
- De-La-Cruz Chacón, I., González-Esquinca, A. R. & Riley-Saldaña, C. A. (2012). Biosíntesis de alcaloides bencilisoquinolínicos. *Universitas Scientiarum*, 17(2), 189-202. <https://doi.org/10.11144/javeriana.sc17-2.bab>
- Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., Dash, S. & Kim, H. S. (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 2020, 505-567. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00015-9>
- Díaz-Chávez, M. L., Rolf, M., Gesell, A. & Kutchan, T. M. (2011). Characterization of two

- methylenedioxy bridge-forming cytochrome P450-dependent enzymes of alkaloid formation in the Mexican prickly poppy *Argemone mexicana*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 507 (1), 186-193. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.11.016>
- Dougoud, J., Toepfer, S., Bateman, M. & Jenner, W. H. (2019). Efficacy of homemade botanical insecticides based on traditional knowledge. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 39, 37. <https://doi.org/10.1007/s13593-019-0583-1>
- Elango, G., Abdul Rahuman, A., Kamaraj, C., Bagavan, A., Abduz Zahir, A., Santhoshkumar, T., Marimuthu, S., Velayutham, K., Jayaseelan, C., Kirthi, A. V. & Rajakumar, G. (2012). Efficacy of medicinal plant extracts against *Formosan subterranean termite*, *Coptotermes formosanus*. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 524-530. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.10.032>
- Elizondo-Luévano, J. H., Castro-Ríos, R., Sánchez-García, E., Hernández-García, M. E., Vargas-Villarreal, J., Rodríguez-Luis, O. E. & Chávez-Montes, A. (2018). *In vitro* study of antiamebic activity of methanol extracts of *Argemone mexicana* on trophozoites of *Entamoeba histolytica* HM1-IMSS. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2018, 7453787. <https://doi.org/10.1155/2018/7453787>
- Fuentes, A., Yoon, S., Kim, S. C. & Park, D. S. (2017). A robust deep-learning-based detector for real-time tomato plant diseases and pests recognition. *Sensors*, 17(9), 2022. <https://doi.org/10.3390/s17092022>
- García-Sánchez, A. N., Yáñez-Macias, R., Hernández-Flores, J. L., Álvarez-Morales, A., Valenzuela-Soto, J. H., Guerrero-Sánchez, C. & Guerrero-Santos, R. (2021). Exogenous application of polycationic nanobactericide on tomato plants reduces the *Candidatus Liberibacter*. *Plants*, 10(10), 2096. <https://doi.org/10.3390/plants10102096>
- Gobato, R., Gobato, A. & Fedrigo, D. F. G. (2015). Allocryptopine, berberine, chelerythrine, copsisine, dihydrosanguinarine, protopine and sanguinarine. Molecular geometry of the main alkaloids found in the seeds of *Argemone Mexicana* Linn. *Parana Journal of Science and Education*, 1(1), 8-16. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1507.05042>
- Granados-Echegoyen, C. A., Chan-Bacab, M. J., Ortega-Morales, B. O., Vásquez-López, A., Lagunez-Rivera, L., Diego-Nava, F. & Gaylarde, C. (2019). *Argemone mexicana* (Papaverales, Papaveraceae) as an alternative for mosquito control: first report of larvicidal activity of flower extract. *Journal of Medical Entomology*, 56(1), 261-267. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy159>
- Gurjar, M. S., Ali, S., Akhtar, M., & Singh, K. S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*, 3(3), 425-433. <https://doi.org/10.4236/as.2012.33050>
- Gutiérrez-Ramírez, J. A., Betancourt-Galindo, R., Aguirre-Uribe, L. A., Cerna-Chávez, E., Sandoval-Rangel, A., Castro-Ángel, E., Chacón-Hernández, J. C., García-López, J. I. & Hernández-Juárez, A. (2021). Insecticidal effect of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles against *Bactericera cockerelli* Sulc. (Hemiptera: Triozidae) on tomato *Solanum lycopersicum*. *Agronomy*, 11(8), 1460. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081460>
- Houghton, P. J., Ren, Y., & Howes, M. J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*, 23(2), 181-199. <https://doi.org/10.1039/b508966m>
- Huang, Y. J., Cheng, P., Zhang, Z. Y., Tian, S. J., Sun, Z. L., Zeng, J. G. & Liu, Z. Y. (2018). Biotransformation and tissue distribution of protopine and allocryptopine and effects of plume poppy total alkaloid on liver drug-metabolizing enzymes. *Scientific Reports*, 8, 537. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18816-7>
- Inoue, N., Terabayashi, T., Takiguchi-Kawashima, Y., Fujinami, D., Matsuoaka, S., Kawano, M., Tanaka, K., Tsumura, H., Ishizaki, T., Narahara, H., Kohda, D., Nishida, Y., & Hanada, K. (2021). The benzylisoquinoline alkaloids, berberine and copsisine, act against camptothecin-resistant topoisomerase I mutants. *Scientific Reports*, 11, 7718. <https://doi.org/10.1038/>

- s41598-021-87344-2
- IRAC. (2014). Insecticide Resistance Action Committee. Susceptibility test method 032. <https://irac-online.org/methods/diaphorina-citri/>
- Jiang, H., Wang, J., Song, L., Cao, X., Yao, X., Tang, F. & Yue, Y. (2018). Chemical composition of an insecticidal extract from *Robinia pseudacacia* L. seeds and its efficacy against aphids in oilseed rape. *Crop Protection*, 104, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.10.004>
- Jiménez-Reyes, M. F., Carrasco, H., Olea, A. F., & Silva-Moreno, E. (2019). Natural compounds: a sustainable alternative to the phytopathogens control. *Revista de La Sociedad Química de Chile*, 64(2), 4459–4465. <https://doi.org/10.4067/S0717-97072019000204459>
- Kosini, D., Nukenine, E. N., Agbor, G. A., Tchinda, A. T., Abdou, J. P., Yaya, J. A. G., & Kowa, T. K. (2021). Fractionated Extracts From *Gnidia kraussiana* (Malvales: Thymeleaceae) as Bioactive Phytochemicals for Effective Management of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Stored *Vigna unguiculata* (Fabales: Fabaceae) Seeds. *Journal of Insect Science (Online)*, 21(1), 1–8. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab006>
- Koul, O., Dhaliwal, G. S., & Cuperus, G. W. (2004). Integrated pest management potential, constraints and challenges. *CABI*, Wallingford, p 336. <https://doi.org/10.1079/9780851996868.0001>
- Lee, E. J., Hagel, J. M., & Facchini, P. J. (2013). Role of the phloem in the biochemistry and ecophysiology of benzyloquinoline alkaloid metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 4, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00182>
- Lengai, G. M. W., Muthomi, J. W., & Mbega, E. R. (2020). Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*, 7, e00239. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00239>
- Liscombe, D. K. & Facchini, P. J. (2008). Evolutionary and cellular webs in benzyloquinoline alkaloid biosynthesis. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(2), 173-180. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.02.012>
- Liu, J. & Wang, X. (2020). Tomato diseases and pests detection based on improved yolo V3 convolutional neural network. *Frontiers in Plant Science*, 11, 898. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00898>
- López-López, H., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y. M., Castro-del Ángel, E., Cerna-Chávez, E., & Delgado-Ortiz, J. C. (2022). Extracto metanólico de *Crotalaria longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida. *Scientia Agropecuaria*, 13(1), 71-78. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.007>
- Manalil, S. & Chauhan, B. S. (2019). Interference of turnipweed (*Rapistrum rugosum*) and Mexican pricklepoppy (*Argemone mexicana*) in wheat. *Weed Science*, 67(6), 666-672. <https://doi.org/10.1017/wsc.2019.42>
- Marek, J., Dostál, J. & Slavík, J. (1998). Crystal structures of α - and β -allocryptopine. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 63, 416-424. <https://doi.org/10.1135/cccc19980416>
- Martínez-Delgado, A. A., Anda, J., León-Morales, J. M., Mateos-Díaz, J. C., Gutiérrez-Mora, A. & Castañeda-Nava, J. J. (2022). *Argemone* species: potential source of biofuel and high-value biological active compounds. *Environmental Engineering Research*, 27(2), 200619. <https://doi.org/10.4491/eer.2020.619>
- Martínez-Tomás, S. H., Rodríguez-Hernández, C., Pérez-Pacheco, R., Granados-Echegoyen, C., Ortiz-Hernández, Y. D. & Floreán-Méndez, F. (2015). Evaluación de tres extractos vegetales en la población de mosca blanca en el cultivo orgánico de jitomate en invernadero. *Entomología Mexicana*, 2, 371-375. <http://acaentmex.org/entomologia/revista/2015/EA/PAG%20%20371-375.pdf>
- Matsuura, H. N. & Fett-Neto, A. G. (2015). Plant alkaloids: main features, toxicity, and mechanisms

- of action. *Plant Toxins* 2, 1-15. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6728-7_2-1
- Menéndez-Perdomo, I. M., & Facchini, P. J. (2018). Benzylisoquinoline alkaloids biosynthesis in Sacred lotus. *Molecules*, 23, 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23112899>
- Miranda-Arámbula, M., Reyes-Chilpa, R. & Anaya, L. A. L. (2021). Phytotoxic activity of aqueous extracts of ruderal plants and its potential application to tomato crop. *Botanical Sciences*, 99(3), <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2727>
- More, N. V., Kharat, K. R. & Kharat, A. S. (2017). Berberine from *Argemone mexicana* L. exhibits a broadspectrum antibacterial activity. *Acta Biochimica Polonica*, 64, 653-660. https://doi.org/10.18388/abp.2017_1621
- Nigdelioglu-Dolanbay, S., Kocanci, G. F. & Aslim, B. (2021). Neuroprotective effects of allocryptopine-rich alkaloid extracts against oxidative stress-induced neuronal damage. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 140, 111690. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111690>
- Páez-León, S. Y., Carrillo-Morales, M., Gómez-Rodríguez, O., López-Guillén, G., Castañeda-Ramírez, G. S., Hernández-Núñez, E., Wong-Villarreal, A. & Aguilar-Marcelino, L. (2022). Nematicidal activity of leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. against *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. *Journal of Helminthology*, 96, 1-7. <https://doi.org/10.1017/S0022149X22000025>
- Quiroz-Carreño, S., Pastene-Navarrete, E., Espinoza-Pinochet, C., Muñoz-Núñez, E., Devotto-Moreno, L., Céspedes-Acuña, C. L. & Alarcón-Enos, J. (2020). Assessment of insecticidal activity of benzylisoquinoline alkaloids from Chilean Rhamnaceae plants against fruit-fly *Drosophila melanogaster* and the lepidopteran crop pest *Cydia pomonella*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(21), 5094. <https://doi.org/10.3390/molecules25215094>
- Ravi, R., Husna-Zulkarnin, N. S., Rozhan, N. N., Nik-Yusoff, N. R., Mat-Rasat, M. S., Ahmad, M. I., Hamzah, Z., Ishak, I. H. & Mohd-Amin, M. F. (2018). Evaluation of two different solvents for *Azolla pinnata* extracts on chemical compositions and larvicidal activity against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Chemistry*, 2018, 7453816. <https://doi.org/10.1155/2018/7453816>
- Romeh, A. A. (2013). Phytochemicals from *Ficus sycomorus* L. leaves act as insecticides and acaricides. *African Journal of Agricultural Research*, 8(27), 3571-3579. <https://doi.org/10.5897/ajar2013.7243>
- Roque-Enríquez, A., Delgado-Ortiz, J. C., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y. M. & Cerna-Chávez, E. (2021). Parámetros agronómicos del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculado con "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" y tratados con fosfitos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 8, e2552. <https://doi.org/10.19136/era.a8n1.2552>
- Rubio-Pina, J. & Vázquez-Flota, F. (2013). Pharmaceutical applications of the benzylisoquinoline alkaloids from *Argemone mexicana* L. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 13(17), 2200-2207. <https://doi.org/10.2174/15680266113139990152>
- Sakai, T., Taira, Z., Kamigauchi, M., Iwasa, K. & Takao, N. (1988). Structure of allocryptopine. *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications*, 44, 838-840. <https://doi.org/10.1107/s010827018701240x>
- Sakthivadivel, M., Eapen, A. & Dash, A. P. (2012). Evaluation of toxicity of plant extracts against vector of *Lymphatic filariasis*, *Culex quinquefasciatus*. *Indian Journal of Medical Research*, 135(3), 397-400. https://journals.lww.com/ijmr/Fulltext/2012/35030/Evaluation_of_toxicity_of_plant_extract_against.20.aspx
- Sandhanam, S. D., Pathalam, G., Antony, S., Samuel, R., Michael, G. P., Kedike, B., Pandikumar, P., Savarimuthu, I. & Al-Dhabi, N. A. (2019). Effect of tiliamosine, a bis, benzylisoquinoline alkaloid isolated from *Tiliacora acuminata* (Lam.) Hook. f. & Thom on the immature stages of filarial mosquito *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae). *Experimental Parasitology*,

- 204, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107719>
- Statistical Analysis Systems (2002) SAS Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary
- Schuler, M. A. (1996). The role of cytochrome P450 monooxygenases in plant-insect interactions. *Plant Physiology*, 112(4), 1411–1419. <https://doi.org/10.1104/pp.112.4.1411>
- Siatka, T., Adamcová, M., Opletal, L., Cahliková, L., Jun, D., Hrabínová, M., Kuneš, J. & Chlebek, J. (2017). Cholinesterase and prolyl oligopeptidase inhibitory activities of alkaloids from *Argemone platyceras* (Papaveraceae). *Molecules* 22(7), 1-14. <https://doi.org/10.3390/molecules22071181>
- Simoes-Pires, C., Hostettmann, K., Haouala, A., Cuendet, M., Falquet, J., Graz, B. & Christen, P. (2014). Reverse pharmacology for developing an anti-malarial phytomedicine. The example of *Argemone mexicana*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4(3), 338-346. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2014.07.001>
- Singh, R., Chaubey, N. & Mishra, R. K. (2021). Evaluation of anti-asthmatic activity of ethanolic extract of *Argemone mexicana* Stems. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*, 7, 39-44. <https://doi.org/10.36348/sjimps.2021.v07i01.007>
- Sumner, K. J. C., Hight, F., Arnsdorf, Y. M., Back, E., Carnegie, M., Madden, S., Carboni, S., Billaud, W., Lawrence, Z. & Kenyon, D. (2020). 'Candidatus Liberibacter solanacearum' distribution and diversity in Scotland and the characterization of novel haplotypes from *Craspedolepta* spp. (Psyllidae: Aphalaridae). *Scientific Reports*, 10, 16567. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73382-9>
- Takemura, T., Ikezawa, N., Iwasa, K. & Sato, F. (2013). Molecular cloning and characterization of a cytochrome P450 in sanguinarine biosynthesis from *Eschscholzia californica* cells. *Phytochemistry*, 91, 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.02.013>
- Tamburino, R., Sannino, L., Cafasso, D., Cantarella, C., Orrù, L., Cardi, T., Cozzolino, S., D'agostino, N. & Scotti, N. (2020). Cultivated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) suffered a severe cytoplasmic bottleneck during domestication: Implications from chloroplast genomes. *Plants*, 9(11), 1443. <https://doi.org/10.3390/plants9111443>
- Tang, X. T., Longnecker, M. & Tamborindeguy, C. (2020). Acquisition and transmission of two 'Candidatus Liberibacter solanacearum' haplotypes by the tomato psyllid *Bactericera cockerelli*. *Scientific Reports*, 10, 14000. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70795-4>
- Tavares, W. R., Barreto, M. D. C., & Seca, A. M. L. (2021). Aqueous and ethanolic plant extracts as bio-insecticides— establishing a bridge between raw scientific data and practical reality. *Plants*, 10(5), 12–29. <https://doi.org/10.3390/plants10050920>
- Tembo, Y., Mkindi, A. G., Mkenda, P. A., Mpumi, N., Mwanauta, R., Stevenson, P. C., Ndakidemi, P. A. & Belmain, S. R. (2018). Pesticidal plant extracts improve yield and reduce insect pests on legume crops without harming beneficial arthropods. *Frontiers in Plant Science*, 9(1), 1425. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01425>
- Vacek, J., Walterová, D., Vrublová, E. & Šimánek, V. (2010). The chemical and biological properties of protopine and allocryptopine. *Heterocycles*, 81(8), 1773-1789. <https://doi.org/10.3987/REV-10-673>
- Xool-Tamayo, J., Tamayo-Ordoñez, Y., Monforte-González, M., Muñoz-Sánchez, J. A. & Vázquez-Flota, F. (2021). Alkaloid biosynthesis in the early stages of the germination of *Argemone mexicana* L. (Papaveraceae). *Plants* 10(10), 2226. <https://doi.org/10.3390/plants10102226>
- Yu, H., Chen, S., Zhou, X. & Wu, F. (2017). Root interactions and tomato growth in tomato/potato onion companion-cropping system under different phosphorus levels. *Journal of Plant Interactions* 12(1), 438-446. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1392624>
- Zou, C. S., Wang, Y. J., Zou, H., Ding, N., Geng, N. N., Cao, C. W., & Zhang, G. C. (2019). Sanguinarine in *Chelidonium majus* induced antifeeding and larval lethality by suppressing

Delgado-Ortiz et al, 2023.

food intake and digestive enzymes in *Lymantria dispar*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 153, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.10.003>

1 **Phytotoxicity of extracts of *Argemone mexicana* and *Crotalaria longirostrata* on tomato**
2 **seedling physiology**

3 Henry López López^a, Mariana Beltrán Beache^b, Yisa María Ochoa Fuentes^a, Epifanio Castro
4 del Ángel^a, Juan Carlos Delgado Ortiz^{c,*}

5 ^aDepartamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada
6 Antonio Narro, C.P. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

7 ^bUniversidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Agronecuarias-
8 Departamento de Fitotecnia. Posta Zootécnica, C.P. 20700. Jesús María, Aguascalientes,
9 México.

10 ^cCatedrático CONACyT-UAAAN, Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma
11 Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro, C.P. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila,
12 México.

13 *Corresponding autor at: Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria
14 Antonio Narro. Calzada Antonio Narro, C.P. 25315. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
15 Email address: moe_788@hotmail.com (Juan Carlos Delgado Ortiz).

16 **Abstract**

17 Phytotoxicity caused by secondary metabolites of botanical extracts is a drawback in
18 agriculture. The purpose of the present study was to evaluate the phytotoxic effects of
19 methanolic extracts of *Crotalaria longirostrata* and *Argemone mexicana* on germination and
20 physiological variables of tomato seedlings. The results indicated that high doses of both
21 extracts (*Clong500* and *Amex500*) inhibited tomato seed germination, while their mixture
22 (*Cl150+Am50*) promoted germination by 100%. Plant height increased with a low dose of *C.*
23 *longirostrata* (*Clong50*) by 15.4% 30 days after transplanting (dat). The vigor index was
24 higher at 30 dat in *Cl150+Am50* at 29.5%. Root length increased with the mean dose of *A.*
25 *mexicana* (*Amex95*) throughout the trial (59.7%, 15.1%, and 22.4%). Chlorophyll content
26 increased throughout the trial with *Clong500* (65.3%, 22.2%, and 16.8%) and *Amex95*
27 (66.1%, 22.6%, and 19.6%). On the other hand, *Amex95* had a higher nitrogen content
28 throughout the trial, while *Clong500* increased at 10 and 20 dat. *Amex95* produced the
29 greatest increase in root dry weight by 731.5% and 209.4% at 10 and 20 dat, while *Clong95*

30 was 78.6% at 30 dat. Foliage dry weight increased by 85.7% at 10 dat with *Amex95*, 20.7%
31 at 20 dat with *Amex500*, and up to 209.7% in *Amex50* at 30 dat. The present investigation
32 reveals the ability of methanolic extracts of *C. longirostrata* and *A. mexicana* to stimulate
33 tomato growth at low and medium doses. Though, at high doses, they exhibit allelopathic
34 effects.

35 **Keywords:** allelopathy, agronomic variables, arvensis, secondary metabolites, alkaloids.

36 1. INTRODUCTION

37 Conventional agriculture focuses on the use of chemical pesticides (an estimated 2.5 million
38 tons of synthetic active ingredients are used annually) to rapidly control pests and diseases
39 of major crops produced worldwide. However, these pesticides reduce the diversity of non-
40 target species, such as natural enemies of pests, toxic effects on ecosystems and human health
41 (Shennan et al. 2017; Gomiero, 2018). This is due to direct or indirect exposure to synthetic
42 active ingredients that generate negative ecological impacts, in addition to risks to
43 agricultural production due to damage to the soil microbiome (Brzozowski and Mazourek,
44 2018).

45 To counteract the negative effects generated by conventional agriculture, innovations in pest
46 and disease management have been proposed through agroecological systems for sustainable
47 products that promote non-curative measures through preventive methods employing
48 mechanical control, the use of biological or botanical agents; which will limit the use of
49 chemical pesticides through a spatial and temporal organization of agronomic and ecological
50 concepts that avoid socioecological vulnerability (Altieri and Nicholls, 2020; Jeanneret et al.
51 2021).

52 For this reason, one solution to the use of chemical pesticides is the use of plant extracts, as
53 these extracts have been proven to be suitable alternatives for weed control, plant
54 biostimulants, pest control, and agricultural diseases (Khan et al. 2020; Anza Cruz et al.
55 2023).

56 Every year about 2000 plant species with potential for pest and disease control in crops are
57 discovered (as of 2015, 400,000 plant species were recorded), and the use of plants as
58 pesticides are given by the presence of secondary metabolites, being more than 200,000

59 reported compounds among non-protein amino acids, anthocyanins, alkaloids, amines,
60 glucosinolates, cyanogenic glycosides, terpenoids, phenylpropanoids, flavonoids, tannins,
61 polyketides, saponins, coumarins, organic acids, and carbohydrates (Geilfus, 2019; Nxumalo
62 et al. 2021). It is believed that plant secondary metabolites do not induce resistance, cause
63 low harmful effects to the environment, are safer for human health, and are more economical
64 for farmers (Tembo et al. 2018).

65 One plant that can be used for this purpose is *Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.
66 (Fabaceae) colloquially known as chipilin, which is used as food in southeastern regions of
67 Mexico and Central America (Camarillo-Castillo and Mangan, 2020). The incorporation of
68 *C. juncea* species in crops such as beans and maize into the substrate as solid fertilizer can
69 increase nitrogen mineralization by up to 85% and carbon availability by 80% (Lynch et al.
70 2016). Similarly, the use of powder made from *C. retusa* leaves has been used to grow
71 *Solanum lycopersicum*, increasing leaf biomass by 24.7% and root biomass by 34.1%
72 (Schinzoumka et al. 2016).

73 However, allelopathic effects have also been reported for some species of this genus, such as
74 *C. retusa* (using a methanolic extract), which exhibits phytotoxic mechanisms at high doses
75 of crude alkaloids on *P. vulgaris*, reducing germination by 69.3%, total protein by 81.7%,
76 and leaf sugar by 62.3% (Ogunsusi et al. 2018).

77 Another plant with similar characteristics is the species *Argemone mexicana* Linn
78 (Papaveraceae) known as chicalote, an annual weed present in Mexico and used as an
79 indigenous medicinal plant (Andleeb et al. 2020; Singh et al. 2021). *A. mexicana* has been
80 found to contain adequate levels of nitrogen and potassium for use as an organic fertilizer
81 once it has been converted to vermicompost (Mistry et al. 2015). On the other hand, *A.*
82 *mexicana* has been reported to have a phytotoxic effect, when used in a 1% w/v aqueous
83 extract, inhibiting tomato and lettuce root germination and growth, while a 1% w/v
84 methanolic extract reduced tomato root elongation by 48% (Miranda-Arambula et al. 2021).

85 Although there are several studies on the effect of the *A. mexicana* species (Siddiqui et al.
86 2002; Khan et al. 2021) and the genus *Crotalaria* (Jourand et al. 2004; Lynch et al. 2016;
87 Schinzoumka et al. 2016) as plant growth stimulants, evidence of the effects of such plants
88 is scarce. Therefore, the present work aimed to evaluate the phytotoxic effects of methanolic

89 extracts of *Crotalaria longirostrata* and *Argemone mexicana* on germination and
90 physiological variables of tomato seedlings.

91 2. MATERIALS AND METHODS

92 The experiment was implemented in the laboratory and greenhouse of the Parasitology
93 Department of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro in Saltillo, Coahuila,
94 Mexico.

95 **2.1 A sampling of plants and preparation of extracts.** The species *C. longirostrata* (Hook.
96 & Arn.) and *A. mexicana* (Linn) have been taxonomically identified and included in the
97 ANSM herbarium of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro with record numbers
98 104040 and 103807, respectively.

99 For *C. longirostrata*, plant samples were taken in Chiapa de Corzo, Chiapas, Mexico, and
100 only leaves were selected for drying in the shade for seven days. They were then milled in a
101 blender (Waring Commercial, model 7011s), left to macerate for 30 days (0.2 g dry
102 matter/mL of 96% methanol), and finally filtered on Whatman paper N° 1 (Miranda-
103 Granados et al. 2018). In the case of *A. mexicana*, it was collected in Saltillo, Coahuila,
104 Mexico, obtaining only leaves, dried in the shade for ten days, and pulverized in a blender
105 (Waring Commercial, model 7011s). Maceration was carried out for seven days with
106 continuous agitation at room temperature (0.1 g dry matter/mL of 96% methanol) and then
107 filtered through Whatman paper No. 1 (Bobi et al. 2015). The two extracts were stored in
108 dark flasks at 4 °C until use.

109 **2.2 Plant material.** Tomato (*Solanum lycopersicum*) seeds of the Rio Grande variety were
110 used. Tomato seeds were immersed in a 6% sodium hypochlorite solution for 10 minutes and
111 then washed five times with sterile distilled water. This process was repeated twice to remove
112 pesticide residues and disinfect the seeds.

113 **2.3 Effect of extracts on tomato seed germination.** The preparation of the concentrations
114 was carried out as described by (López-López et al. 2022) where the relative density of each
115 extract was obtained using a 25 mL Gay-Lussac pycnometer (Brand 16038, Germany) and
116 the density of water was taken as 0.997299 g/cm³ at 24 °C for *C. longirostrata* and 0.997772
117 g/cm³ at 22 °C for *A. mexicana*.

118 The lethal concentrations (LC) of *C. longirostrata* (López-López et al. 2022), and *A.*
 119 *mexicana* (in press Delgado-Ortiz et al. 2023) have been obtained in previous studies. Based
 120 on these concentrations, the treatments evaluated were: for *C. longirostrata* the LC₅₀ was
 121 4.78 mg/mL (*Clong50*) and the LC₉₅ of 14.52 mg/mL (*Clong95*), for *A. mexicana* the LC₅₀,
 122 was 7.63 mg/mL (*Amex50*) and CL₉₅ of 107.98 mg/mL (*Amex95*), the doses of each extract
 123 at 500 mg/mL (*Clong500* and *Amex500*) and the mixture of extracts with the CL₅₀ of each
 124 (*Cl50+Am50*). To evaluate the phytotoxic or growth-stimulant effects on tomato plants.

125 To test seeds viability, the procedure described by Ray and Bordolui (2022) 15 seeds were
 126 placed in each Petri dish with filter paper, which was moistened with 10 mL of the different
 127 concentrations of the methanolic extracts of *C. longirostrata* and *A. mexicana*, while distilled
 128 water was used for the absolute control. Four replicates were established for each treatment
 129 and the absolute control. The Petri dishes were kept in the laboratory at a temperature of 25
 130 °C and germinated seeds were counted after eight days (germinated seeds were considered
 131 those with visible radicle and hypocotyl). The test had a completely randomized design and
 132 four replications. The results were expressed in terms of germination percentage:

$$133 \quad \% \text{ germination} = X/Y * 100$$

134 Where X is the number of seeds germinated in each treatment at eight days and Y is the
 135 number of seeds germinated in the absolute control at eight days.

136 **2.4 Greenhouse assay.** Tomato seeds were germinated in 200-cavity polystyrene trays with
 137 peat moss as substrate and transplanted 30 days after emergence. Subsequently, they were
 138 placed in 10 L pots containing a mixture of perlite and peat moss (1:1). Plant nutrition was
 139 carried out with Steiner's nutrient solution (Steiner, 1961) according to the phenological stage
 140 of the crop. Different doses of methanolic extracts were applied by spraying with the aid of
 141 an atomizer. The first application was made immediately after transplanting, the second
 142 application was made 10 days after transplanting (dat) and the third was applied at 20 dat.

143 The vigor index is a quality parameter that considers the germination capacity and viability
 144 of the same batch of seeds, and is calculated according to the formula proposed by Ray and
 145 Bordolui (2022):

$$146 \quad \text{Vigor index} = G * L$$

147 Where G is the germination rate obtained in the laboratory test and L is the length of the
148 aerial part of the plant obtained in the greenhouse.

149 Plant aerial height in cm was recorded with a flexometer, root length in mm was measured
150 with a Vernier caliper, plant dry weight (root and foliage) in g was obtained with an analytical
151 balance (Ohaus); chlorophyll index and nitrogen content using the Minolta SPAD 502 plus
152 chlorophyll meter (provides chlorophyll in SPAD units and the value of nitrogen present in
153 the leaf) (López-López et al. 2023). Readings for all variables were taken at 10, 20, and 30
154 days.

155 2.5 Statistical analysis, Obtained data were processed with an analysis of variance and
156 means were compared with Tukey's test ($p < 0.05$) under a completely randomized design. All
157 analyses were performed with the Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 statistical
158 software.

159 3. RESULTS

160 3.1 Effect of extracts on tomato seed germination

161 Germination of tomato seeds after the application of methanolic extracts of *C. longirostrata*
162 and *A. mexicana* (Table 1) was sensitive to high doses of both extracts (*Clong500* and
Amex500); the highest germination was obtained
Cl150+Am50, with 100% germination; a promotion
comparison with the germination rate observed in the
163 *Amex500*; the highest germination obtained with the mixture of the extracts
164 *Cl150+Am50*, with 100% promotion of germination was observed in
165 germination. rate observed in the control seeds.

166 Table 1. Effect of methanolic extract of *C. longirostrata* and *A. mexicana* on tomato seed
167

Treatments	% Germination
Control	88.9±3.81bc
<i>Clong50</i>	91.1±3.81ab
<i>Clong95</i>	86.7±0.1Sbc
<i>Clong500</i>	80.7±6.70c
<i>Amex50</i>	86.7±0.1übc
<i>Amex95</i>	86.7±0.1Sbc

<i>Amex500</i>	84.47±3.87bc
<i>Cl50+Am50</i>	100±0a
p-valor	0.0001

168 According to Tukey's test ($p \leq 0.05$), equal letters are not significantly different.

169 3.2 Greenhouse test

170 At the beginning of the study, the tomato plants treated with the methanolic extracts were
 171 smaller than the control plants (Table 2); conversely, development responded favorably at 20
 172 dat, showing greater growth in *Clong500* and *Amex95*. Better results were obtained at 30 dat
 173 with the mixture of extracts (*Cl50+Am50*) with growth increases of 14.9% and 15.4% with
 174 *Clong500*.

175 **Table 2.** Response of tomato plant height to methanolic extracts of *C. longirostrata* and *A.*
 176 *mexicana*.

Treatments	Height (cm)		
	Days after transplanted		
	10	20	30
Control	11.25±1.75a	18.83±1.44ab	22.30±0.96b
<i>Clong50</i>	10.08±1.32ab	19.80±2.02a	23.67±1.26ab
<i>Clong95</i>	8.42±0.86b	18.67±0.58ab	22.60±0.36ab
<i>Clong500</i>	9.70±1.64ab	20.00±1.73a	25.73±2.16a
<i>Amex50</i>	9.75±1.69ab	19.16±1.62ab	25.30±0.87ab
<i>Amex95</i>	11.08±0.58a	20.17±1.44a	24.40±0.53ab
<i>Amex500</i>	10.27±0.98ab	17.83±0.29ab	24.60±0.36ab
<i>Cl50+Am50</i>	9.08±0.66ab	15.70±0.17b	25.63±1.56a
p-valor	0.0066	0.0162	0.0122

177 Means with the same letter in the same column are not significantly different by Tukey's test
 178 ($p \leq 0.05$).

179 After applying methanolic extracts on tomato plants at 10 days, all treatments expressed a
 180 low vigor index (Table 3). At 20 and 30 dat, a slight increase in vigor index was recorded in
 181 the *Amex95* treatment (4.5% and 6.8%) and a moderate increase in *Clong50* (8.4% and 8.9%).

182 After 30 dat, the *Amex50* dose reached a vigor index of 10.7%, while the mixture of extracts
 183 (*Cl50+Am50*) achieved the highest increase with 29.5%.

184 **Table 3.** Vigor index of tomato plants treated with methanolic extracts of *C. longirostrata*
 185 and *A. mexicana*.

Treatments	Plant vigor index		
	Days after transplantation		
	10	20	30
Control	996.7±114.7a	1672.2±108.6a	1979.8±13.1b
<i>Clong50</i>	918.3±74.6abc	1812.2±255.9a	2156.7±156.2ab
<i>Clong95</i>	729.4±62.6c	1617.8±50.1a	1958.7±31.2b
<i>Clong500</i>	774.0±87.7bc	1606.7±257.9a	2068.6±345.2b
<i>Amex50</i>	845.0±86.7abc	1652.4±140.1a	2192.6±75.1ab
<i>Amex95</i>	960.6±33.1ab	1747.8±125.1a	2114.6±45.9b
<i>Amex500</i>	867.2±69.1abc	1505.6±60.8a	2076.4±66.8b
<i>Cl50+Am50</i>	908.3±38.2abc	1570.0±17.3a	2563.3±155.7a
p-valor	0.007	0.034	0.005

186 Means with the same letter in the same column are not significantly different by Tukey's test
 187 ($p \leq 0.05$).

188 As can be seen in Table 4, the application of *Amex95* stimulated greater root growth of tomato
 189 plants throughout the trial (59.7%, 15.1%, and 22.4%, respectively). However, at 20 days
 190 post-transplanting, the *Clong500* treatment showed a similar increase (15.8%) over the
 191 *Amex95* treatment (15.1%). At the end of the trial, *Amex95* and *Amex500* treatment similarly
 192 increased root length by 22.4% and 21.6%.

193 **Table 4.** Response of tomato plant root length to methanolic extracts of *C. longirostrata* and
 194 *A. mexicana*.

Treatments	Root length (mm)		
	Days after transplantation		
	10	20	30
Control	6.7±0.35c	15.2±1.63b	24.1±0.10b
<i>Clong50</i>	9.2±0.49ab	15.5±0.23ab	26.5±2.12ab
<i>Clong95</i>	7.7±0.35bc	15.0±0.52b	26.7±1.06ab
<i>Clong500</i>	9.0±0.71ab	17.6±0.31a	28.6±0.49ab
<i>Amex50</i>	9.9±0.85ab	14.5±0.10b	24.7±0.35ab
<i>Amex95</i>	10.7±0.35a	17.5±0.20a	29.5±2.12a

<i>Amex500</i>	8.0±0.71bc	16.5±0.10ab	29.3±0.92a
<i>Cl50+Am50</i>	8.3±0.35bc	15.0±0.24b	25.0±1.41ab
p-value	0.0018	0.0037	0.0136

195 Means with the same letter in the same column are not significantly different by Tukey's test
196 ($p \leq 0.05$).

197 Chlorophyll content in tomato leaves was higher with methanolic extracts (Table 5), where
198 chlorophyll values for 10 dat were higher in *Clong500* and *Amex95* (65.3% and 66.1%). At
199 20 dat, SPAD values increased in all treatments, but the percentage was lower compared to
200 the first evaluation; the best treatments were *Clong500* with 22.2% and *Amex95* was 22.6%.
201 At 30 dat, an increase was achieved by 20.7% and 20.6% in *Clong95* and *Amex95*. Similar
202 to chlorophyll, nitrogen content increased at 10 dat in the *Clong500* (51.7%) and *Amex95*
203 (48.3%) treatments; at 20 dat there was a 22% and 22.5% increase, respectively. At 30 dat,
204 the *Clong95* (20.8%) and *Amex95* (20.7%) treatments showed the highest nitrogen levels.

205 **Table 5.** Chlorophyll and nitrogen content in tomato leaves to methanolic extracts of *C.*
206 *longirostrata* and *A. mexicana*.

Treatments	Days after transplantation					
	10		20		30	
	SPAD	Nitrogen	SPAD	Nitrogen	SPAD	Nitrogen
Control	27.16±1.47c	9.48±0.68d	47.85±1.47d	15.27±0.46d	56.10±3.12b	17.90±0.96b
<i>Clong50</i>	33.48±1.21bc	11.72±1.42abcd	53.10±1.77bc	16.93±0.58bc	65.12±4.21a	20.83±1.31a
<i>Clong95</i>	38.76±1.73ab	13.12±1.56ab	51.47±0.62cd	16.43±0.21cd	67.73±2.57a	21.63±0.81a
<i>Clong500</i>	44.90±2.64a	14.38±0.82a	58.45±2.41a	18.63±0.76a	65.53±1.79a	21.17±0.78a
<i>Amex50</i>	37.72±3.67b	12.56±1.72abc	57.57±3.44ab	18.35±1.13ab	67.66±1.72a	21.60±0.56a
<i>Amex95</i>	45.10±3.91a	14.06±1.73a	58.67±2.67a	18.70±0.88a	67.13±2.4a	21.40±0.78a
<i>Amex500</i>	36.34±4.37b	11.38±1.30bcd	55.85±2.21abc	17.90±0.70abc	64.53±1.32a	20.60±0.46a
<i>Cl50+Am50</i>	31.82±1.67bc	10.14±0.66cd	57.60±1.46ab	18.27±0.33ab	61.57±2.89ab	19.70±0.96ab
p-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0009	0.001

207 Means with the same letter in the same column are not significantly different by Tukey's test
208 ($p \leq 0.05$).

209 The application of *Amex95* at 10 dat increased plant root dry weight by 731.5% compared to
210 the control (Table 6). Subsequently, at 20 dat the *Amex95* treatment increased by 209.4% and
211 *Clong50* increased by 61.5%. At 30 days after transplanting, the *Amex50* and *Amex500*
212 treatments showed a very similar increasing (68.8% and 70.1%, respectively), while *Clong95*
213 was superior with 78.6%. Regarding the dry weight of the aerial part of the plant after
214 receiving different doses of the extracts, the dry biomass showed a significant increase (Table
215 6). The treatment with *Amex95* reached 85.7% after 10 dat and *Amex500* obtained 20.7% at
216 20 dat. At the end of the trial (30 dat), *Amex50* showed the greatest increase with 209.7%,
217 followed by *Amex95* (198.4%) and *Amex500* (198.3%).

218 **Table 6.** Dry weight responses of leaves and roots of tomato plants to methanolic extracts of
219 *C. longirostrata* and *A. mexicana*.

Treatments	Days after transplantation					
	10		20		30	
	Root	leaves	Root	leaves	Root	leaves
Control	0.089±0.01 30c	0.35±0.0 060c	0.53±0.01 04c	3.39±0.450 0bcd	1.54±0. 050c	6.99±0.0 40d
<i>Clong50</i>	0.142±0.00 09bc	0.54±0.0 003b	1.69±0.01 10a	3.31±0.090 0cd	1.56±0. 007c	6.52±0.0 01d
<i>Clong95</i>	0.101±0.00 01c	0.28±0.0 001g	1.42±0.00 08bc	3.83±0.000 4abc	2.75±0. 030a	19.86±0. 210b
<i>Clong500</i>	0.180±0.00 02b	0.28±0.0 001g	1.36±0.06 30c	3.15±0.000 4d	1.85±0. 001b	16.99±0. 040c
<i>Amex50</i>	0.117±0.00 02c	0.44±0.0 004d	1.46±0.00 01b	3.98±0.000 4ab	2.60±0. 080a	21.65±0. 004a
<i>Amex95</i>	0.740±0.41 00a	0.65±0.0 002a	1.64±0.00 08a	3.66±0.004 0abcd	1.43±0. 110c	20.86±0. 590a
<i>Amex500</i>	0.098±0.00 03c	0.44±0.0 004c	1.40±0.00 05bc	4.09±0.003 0a	2.62±0. 006a	20.85±0. 110a
<i>Cl50+Am50</i>	0.094±0.00 06c	0.32±0.0 004f	1.25±0.00 03d	3.74±0.000 4abcd	1.56±0. 020c	6.50±0.0 70d
p-valor	0.0001	0.0001	0.0001	0.0036	0.0001	0.0001

220 Means with the same letter in the same column are not significantly different by Tukey's test
221 ($p \leq 0.05$).

222 4. DISCUSSION

223 Plant extracts derived from roots, leaves, stems, flowers, and seeds are sources of secondary
224 metabolites that may produce stimulant or allelopathic effects (Anza Cruz et al. 2023). The
225 use of biostimulants is considered to be an option to reduce losses in agriculture since when
226 applied to leaves or seeds, they improve nutrient uptake capacity and strengthen resistance
227 to abiotic and biotic stresses (Khan et al. 2020).

228 A metabolite with phytotoxic activity must be absorbed by the different plant organs, and
229 translocated through the phloem and xylem; therefore, its mode of action depends on the
230 accepting plant species and the resources it limits (water, nutrients, light, ATP synthesis, gene
231 expression or damage to the cell cycle) (Lewerenz et al. 2022).

232 Although studies on the possible phytotoxic properties of *C. longirostrata* are limited, other
233 species of the genus *Crotalaria* have shown allelopathic effects on seed germination. The
234 aqueous extract of *C. juncea* leaves, at 1.5 and 3.3% (w/v), significantly affected tomato seed
235 germination by 12 and 100% (Skinner et al. 2012). Also, a methanolic extract of *C. juncea*
236 leaves (1 mg/mL) inhibited the germination of *Vigna radiata* by 50% (Samuel and Kumar,
237 2020). The extract containing chloroform fraction and leaves of *C. retusa* at concentrations
238 of 10, 50, and 10 µg/mL reduced the germination ability of *Phaseolus vulgaris* by up to 60%
239 (Ogunsusi et al. 2018) and 15% (w/v) aqueous extract of *C. juncea* leaves inhibited up to
240 56.1% germination of *Zea mays* (Da Cruz-Silva et al. 2015). However, the methanolic extract
241 of *C. juncea* roots promoted up to 40% more germination (Samuel and Kumar, 2020).

242 The application of 1% (w/v) aqueous extract of *A. mexicana* reduced the germination rate of
243 tomato seeds by 90% (Miranda-Arámula et al. 2021). In *Sorghum bicolor* seeds, a 14 and
244 79.7% reduction in germination was observed when the aqueous extract was applied at doses
245 of 5 and 25% (w/v) (Alagesaboopathi, 2013). Furthermore, an aqueous extract of *A. mexicana*
246 at 50 g/L had an inhibitory effect on the germination of *Brachiaria dictyoneura* by 47.4%
247 and 20.5% on *Clitoria ternatea* (Namkeleja et al. 2013). The results obtained in this study
248 showed that *Clong500* and *Amex500* inhibited germination by up to 8.9%, but instead, a
249 mixture of said two extracts stimulated germination by up to 100% (Table 1).

250 Aqueous extracts of leaves of *C. brevidens*, *C. sessiliflora*, and *C. juncea* (w/v) increased the
 251 growth of *Triticum aestivum* by 7.1 to 12.7% (Ohdan et al. 1995). The aqueous leaf extract
 252 of *C. juncea* (w/v), increased the stem height of *Lactuca sativa* by 7.7% (Bundit et al. 2021).
 253 Likewise, a 50% w/v aqueous extract of *A. mexicana* stems stimulated the height of tomato
 254 plants by 18.5% (Siddiqui et al. 2002). Namkeleja et al. (2013) reported that the aqueous
 255 extract of *A. mexicana* at 50 g/L promoted the development of *B. dictyoneura* (55.3%) and
 256 *C. ternatea* (32.5%) plants. These results are consistent with those observed in Table 2, where
 257 tomato plant height was greater when *C. longirostrata* and *A. mexicana* extracts were applied.
 258 The seed vigor index indicates the relationship between environmental or genetic factors that
 259 influence seed quality, rapid and uniform plant emergence, plant weight, and/or plant growth
 260 rate under field or greenhouse conditions (Zhao et al. 2016; Wel et al. 2018). As can be seen
 261 in Table 3, the highest vigor index was presented with *C150+Am50*, suggesting that the
 262 extracts improve tomato seed and plant vigor.
 263 There are several *Crotalaria* species (*C. brevidens*, *C. juncea*, *C. lanceolata*, *C. pallida*, *C.*
 264 *sessiliflora*, and *C. spectabilis*) that have demonstrated their allelopathic effect when used as
 265 ground cover on *T. aestivum*, affecting root growth by up to 40.6% and on the length of the
 266 longest root by up to 53.7% (Ohdan et al. 1995). However, an aqueous extract of *C. juncea*
 267 leaves at a low dose (7.5% w/v) increased the length of the longest root of *Z. mays* by 9.16
 268 (Da Cruz-Silva et al. 2015); the use of *C. juncea* as a ground cover (500 g/m²) increased root
 269 development of *Z. mays* by 11.2% 24 days after emergence (dae) (Sangakkara et al. 2004).
 270 The present results showed a similar increase in root length by *Amex95* and *Amex500*
 271 treatments.
 272 Chlorophyll content has been observed to increase when *C. juncea* species is used as green
 273 manure in the *Z. mays* crop, increasing by up to 35.6% at 56 dde (Subaedah et al. 2016) and
 274 in *Oryza sativa*, by up to 25.5% (Islam et al. 2019). As shown in Table 5, the increase in
 275 chlorophyll and nitrogen are closely related, it can also be seen that the treatments of *C.*
 276 *longirostrata* and *A. mexicana* produce a positive effect on tomato leaves.
 277 Regarding the dry weight, the results of the methanolic extract of *A. mexicana* increased the
 278 dry weight of the root and aerial part of the tomato plant compared to the extract of *C.*
 279 *longirostrata* (Table 6). In *L. sativa* plants, there was an increase of 16.6% due to the use of

280 the aqueous extract of *C. juncea* roots at 50 g/L (Bundit et al. 2021) and up to 112.3% in *O.*
281 *sativa* plants at 60 dae when using *C. juncea* as a ground cover (Islam et al. 2019). Likewise,
282 50% (w/v) aqueous extract of *A. mexicana* stems increased by 38% of the total dry weight of
283 tomato plants (Siddiqui et al. 2002).

284 In addition, the results showed the presence of secondary metabolites in the extracts through
285 Gas Chromatography and Mass Spectrophotometry, which could be responsible for the
286 ability to stimulate plant growth. The methanolic extracts of *A. mexicana* and *C. longirostrata*
287 presented 72.6% and 79.9% abundance of these compounds, respectively; these metabolites
288 belong to the groups of saturated and unsaturated fatty acids, amines, fatty alcohols,
289 alkaloids, and cyanogenic glycosides (López-López et al. 2022; in press Delgado-Ortiz et al.
290 2023).

291 Metabolites such as saturated and unsaturated fatty acids may promote plant growth through
292 the synthesis of cellular constituents (Bonaventure et al. 2003; Liu et al. 2008). These lipids
293 act in the tricarboxylic acid cycle, contributing to enzyme activation, and also may increase
294 germination, root formation, photosynthesis, trichome number, and fruit yield (Zhang and
295 Fernie, 2018; Walker et al., 2021). In the case of fatty acids, they are involved in jasmonic
296 acid biosynthesis, fruit ripening, tuber formation, and pollen development (Kachroo and
297 Kachroo, 2009; Jang et al. 2020).

298 Alkaloids are a group of secondary metabolites that have a varied structure, they may consist
299 mainly of two carbon and nitrogen rings, with substituent groups at carbon 1 and 7 (Geilfus,
300 2019). The various modifications that nitrogen presents in the molecule (heterocyclic and
301 non-heterocyclic), allow for arrangements in the chemical structure and therefore, in its
302 biological activity (Bhambhani et al. 2021). Due to their carbon and nitrogen composition,
303 they could be used for plant nutrition (Dey et al. 2020).

304 5. CONCLUSION

305 It was found that methanolic extracts of *A. mexicana* and *C. longirostrata* leaves showed
306 phytotoxic activity at high doses on *S. lycopersicum*, which affected germination, plant
307 height, and vigor index. On the other hand, the two combined extracts showed the ability to
308 stimulate seed germination. These methanolic extracts showed active properties as plant

309 growth promotion in *S. lycopersicum* cultivation and as a possible insecticide, suggesting
310 their application to reduce the use of synthetic molecules.

311 AUTHOR'S CONTRIBUTION

312 HLL and JCDO conceived, designed, and conducted the investigation. HLL, JCDO, and
313 ECA; in participation with MBB, performed the data analysis and interpretation. HLL
314 prepared the manuscript with the support of JCDO, and YMOF. All authors contributed to
315 the discussion, revision, and acceptance of the final manuscript.

316 CONFLICT OF INTEREST

317 The authors declare no potential conflict of interest.

318 ACKNOWLEDGEMENT

319 Thanks are extended to Juan Carlos Delgado Ortiz for financial support from the Consejo
320 Nacional de Ciencia y Tecnología (programa Cátedras Proyecto 1048) and to Henry López
321 López (777528) for his doctoral scholarship.

322 REFERENCES

- 323 Alagesaboopathi, C., 2013. Allelopathic effect of different concentration of water extract of
324 *Argemone mexicana* L. on seed germination and seedling growth of *Sorghum bicolor*
325 (L.) Moench. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5 (1), 52–55.
326 <https://doi.org/10.9790/3008-0515255>
- 327 Altieri, M.A., Nicholls, C.L., 2020. Agroecology and the reconstruction of a post-COVID-19
328 agriculture. *Journal of Peasant Studies*, 47, 881–898.
329 <https://doi.org/10.1080/03066150.2020.1782891>
- 330 Andleeb, S., Alsahme, A., Al-Zaqri, N., Warad, I., Alkahtani, J., Bukhari, S.M., 2020. In-
331 vitro antibacterial and antifungal properties of the organic solvent extract of
332 *Argemone mexicana* L. *Journal of King Saud University - Science*, 32 (3), 2053–
333 2058. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.01.044>
- 334 Anza Cruz, H.G., Ramírez González, S.I., López Báez, O., Espinoza Zaragoza, S., 2023.
335 Fitotoxicidad de extractos vegetales en la germinación de semillas y desarrollo inicial

- 336 de plantas mono y dicotiledóneas. Espacio I+D, Innovación Más Desarrollo, 12 (32),
337 119–140. <https://doi.org/10.31644/IMASD.32.2023.a07>
- 338 Bhambhani, S., Kondhare, K.R., Giri, A.P., 2021. Diversity in chemical structures and
339 biological properties of plant alkaloids. *Molecules*, 26 (11), 1–29.
340 <https://doi.org/10.3390/molecules26113374>
- 341 Bobi, A.H., Bandiya, M.H., Suleiman, M., Usman, M., 2015. Evaluation of Insecticidal
342 Efficacy of Some Selected Plants Leaf- Ethanol Extracts against *Musca domestica* L.
343 [Diptera: Muscidae]. *Entomology and Applied Science Letters*, 2 (1), 23–28.
344 [https://easletters.com/article/zxkd-evaluation-of-insecticidal-efficacy-of-some-](https://easletters.com/article/zxkd-evaluation-of-insecticidal-efficacy-of-some-selected-plants-leaf-ethanol-extracts-against-musca-domestica-l-diptera-muscidae)
345 [selected-plants-leaf-ethanol-extracts-against-musca-domestica-l-diptera-muscidae.](https://easletters.com/article/zxkd-evaluation-of-insecticidal-efficacy-of-some-selected-plants-leaf-ethanol-extracts-against-musca-domestica-l-diptera-muscidae)
346 Accessed 23/04/2023.
- 347 Bonaventure, G., Salas, J.J., Pollard, M.R., Ohlrogge, J.B., 2003. Disruption of the FATB
348 gene in *Arabidopsis* demonstrates an essential role of saturated fatty acids in plant
349 growth. *Plant Cell*, 15 (4), 1020–1033. <https://doi.org/10.1105/tpc.008946>
- 350 Brzozowski, L., Mazourek, M., 2018. A sustainable agricultural future relies on the transition
351 to organic agroecological pest management. *Sustainability*, 10 (6), 1–25.
352 <https://doi.org/10.3390/su10062023>
- 353 Bundit, A., Ostlie, M., Prom-U-Thai, C., 2021. Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) weed
354 suppression and allelopathy at different timings. *Biocontrol Science and Technology*,
355 31 (7), 694–704. <https://doi.org/10.1080/09583157.2021.1881446>
- 356 Camarillo-Castillo, F., Mangan, F.X., 2020. Biological nitrogen fixation in chipilin
357 (*Crotalaria longirostrata* Hook. & Arn.), a sustainable nitrogen source for
358 commercial production. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 26 (2), 125–141.
359 <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2020.01.002>
- 360 Da Cruz-Silva, C.T.A., Matiazzo, E.B., Pacheco, F., Nóbrega, L.H.P., 2015. Allelopathy of
361 *Crotalaria juncea* L. aqueous extracts on germination and initial development of
362 maize. *Idesia*, 33 (1), 27–32. <https://www.scielo.cl/pdf/idesia/v33n1/art03.pdf>.
363 Accessed 12/03/2023.

- 364 Delgado-Ortiz, J.C, López-López, H., Beltrán-Beache, M.,Ochoa-Fuentes, Y.M., Cerna-
365 Chávez, E., Castro del Ángel, E., 2023. Efecto insecticida del extracto metanólico de
366 *Argemone mexicana* para el control de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemípteros:
367 Triozidae). *Revista Bio Ciencias*, 10, e1404. <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e140>
- 368 Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B.M., Bhakta, T., Dash, S., Kim, H.S., 2020.
369 Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In
370 *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 5 (1), 505–567.
371 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00015-9>
- 372 Geilfus, C.M., 2019. Plant Secondary Compounds. In *Controlled Environment Horticulture*
373 (pp. 19–33). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-23197-2_3
- 375 Gomiero, T., 2018. Food quality assessment in organic vs. conventional agricultural produce:
376 Findings and issues. *Applied Soil Ecology*, 123, 714–728.
377 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.10.014>
- 378 Islam, M.M., Urmi, T.A., Rana, M.S., Alam, M.S., Haque, M.M., 2019. Green manuring
379 effects on crop morpho-physiological characters, rice yield and soil properties.
380 *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25 (1), 303–312.
381 <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0624-2>
- 382 Jang, G., Yoon, Y., Choi, Y.D., 2020. Crosstalk with jasmonic acid integrates multiple
383 responses in plant development. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (1),
384 305. <https://doi.org/10.3390/ijms21010305>
- 385 Jeanneret, P., Aviron, S., Alignier, A., Lavigne, C., Helfenstein, J., Herzog, F., Kay, S., Petit,
386 S., 2021. Agroecology landscapes. *Landscape Ecology*, 36 (8), 2235–2257.
387 <https://doi.org/10.1007/s10980-021-01248-0>
- 388 Jourand, P., Rapior, S., Fargette, M., Mateille, T., 2004. Nematostatic effects of a leaf extract
389 from *Crotalaria virgulata* subsp. *grantiana* on *Meloidogyne incognita* and its use to
390 protect tomato roots. *Nematology*, 6 (1), 79–84.
391 <https://doi.org/10.1163/156854104323072955>

- 392 Kachroo, A., Kachroo, P., 2009. Fatty acid-derived signals in plant defense. Annual Review
393 of Phytopathology, 47, 153–176. [https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081820)
394 081820
- 395 Khan, A., Tariq, M., Ahmad, F., Mennan, S., Khan, F., Asif, M., Nadeem, H., Ansari, T.,
396 Shariq, M., Siddiqui, M.A., 2021. Assessment of nematicidal efficacy of chitosan in
397 combination with botanicals against *Meloidogyne incognita* on carrot. Acta
398 Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science, 71 (4), 225–236.
399 <https://doi.org/10.1080/09064710.2021.1880620>
- 400 Khan, S., Basra, S.M.A., Nawaz, M., Hussain, I., Foidl, N., 2020. Combined application of
401 moringa leaf extract and chemical growth-promoters enhances the plant growth and
402 productivity of wheat crop (*Triticum aestivum* L.). South African Journal of Botany,
403 129, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.007>
- 404 Lewerenz, L., Abouzeid, S., Yahyazadeh, M., Hijazin, T., Selmar, D., 2022. Novel cognitions
405 in allelopathy: implications from the “horizontal natural product transfer”. Plants, 11
406 (23), 3264. <https://doi.org/10.3390/plants11233264>
- 407 Liu, S., Ruan, W., Li, J., Xu, H., Wang, J., Gao, Y., Wang, J., 2008. Biological control of
408 phytopathogenic fungi by fatty acids. Mycopathologia, 166 (2), 93–102.
409 <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9124-1>
- 410 López-López, H., Beltrán-Beache, M., Ochoa-Fuentes, Y.M., Castro-del Ángel, E., Cerna-
411 Chávez, E., Delgado-Ortiz, J.C., 2022. Extracto metanólico de *Crotalaria*
412 *longirostrata*: Identificación de metabolitos secundarios y su efecto insecticida.
413 Scientia Agropecuaria, 13 (1), 71–78.
414 <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.007>
- 415 López-López, H., Ruiz-Lau, N., Meza-Gordillo, R., Ruiz-Valdiviezo, V.M., Robledo-
416 Luchetti, J.G., Lecona-Guzmán, C.A., Villalobos-Maldonado, J.J., Dendooven, L.,
417 Montes-Molina, J.A., 2023. Antifungal potential of *Beauveria bassiana* on *Solanum*
418 *lycopersicum* L. infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Phyton-
419 International Journal of Experimental Botany, 92 (4), 1235–1255.
420 <https://doi.org/10.32604/phyton.2023.025716>

- 421 Lynch, M.J., Mulvaney, M.J., Hodges, S.C., Thompson, T.L., Thomason, W.E., 2016.
422 Decomposition, nitrogen and carbon mineralization from food and cover crop
423 residues in the central plateau of Haiti. *Springer Plus*, 5 (973), 1–9.
424 <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2651-1>
- 425 Miranda-Arámbula, M., Reyes-Chilpa, R., Anaya, L.A.L., 2021. Phytotoxic activity of
426 aqueous extracts of ruderal plants and its potential application to tomato crop.
427 *Botanical Sciences*, 99 (3), 487–498. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2727>
- 428 Miranda-Granados, J., Chacón, C., Ruiz-Lau, N., Vargas-Díaz, M.E., Zepeda, I.G., Alvarez-
429 Gutiérrez, P., Meza-Gordillo, R., Lagunas-Rivera, S., 2018. Alternative use of
430 extracts of Chipilín leaves (*Crotalaria longirostrata* Hook & Arn) as antimicrobial.
431 *Sustainability (Switzerland)*, 10 (3), 883. <https://doi.org/10.3390/su10030883>
- 432 Mistry, J., Mukhopadhyay, A.P., Baur, G.N., 2015. Status of N P K in vermicompost
433 prepared from two common weed and two medicinal plants. *International Journal of*
434 *Applied Sciences and Biotechnology*, 3 (2), 193–196.
435 <https://doi.org/10.3126/ijasbt.v3i2.12533>
- 436 Namkeleja, H.S., Tarimo, M.T., Ndakidemi, P.A., 2013. Allelopathic effect of aqueous
437 extract of *Argemone mexicana* L. on germination and growth of *Brachiaria*
438 *dictyoneura* L. and *Crotalaria ternatea* L. *American Journal of Plant Sciences*, 4 (11),
439 2138–2147. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.411266>
- 440 Nxumalo, K.A., Aremu, A.O., Fawole, O.A., 2021. Potentials of medicinal plant extracts as
441 an alternative to synthetic chemicals in postharvest protection and preservation of
442 horticultural crops: A review. *Sustainability*, 13 (11), 1–33.
443 <https://doi.org/10.3390/su13115897>
- 444 Ogunsusi, M., Akinlalu, A.O., Komolafe, I.J., Oyedapo, O.O., 2018. Allelopathic effects of
445 alkaloid fraction of *Crotalaria retusa* Linn on growth and some biochemical
446 parameters of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris*). *International Journal of Plant*
447 *Physiology and Biochemistry*, 10 (1), 1–9. <https://doi.org/10.5897/ijppb2017.0261>

- 448 Ohdan, H., Daimon, H., Mimoto, H., 1995. Evaluation of allelopathy in *Crotalaria* plants by
449 the growth pouch method. *Journal of the Crop Science Society of Japan*, 64 (3), 644–
450 649. <https://doi.org/10.1626/jcs.64.644>
- 451 Ray, J., Bordolui, S.K., 2022. Effect of seed priming as pre-treatment factors on germination
452 and seedling vigour of tomato. *International Journal of Plant and Soil Science*, 34
453 (20), 302–311. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2022/v34i2031156>
- 454 Samuel, P.N.K.J., Kumar, R.S.A.S., 2020. Antioxidant, antimicrobial, haemolytic,
455 germination and growth promoting properties of *Crotalaria juncea* L. *Plant Science*
456 *Today*, 7 (2), 201–205. <https://doi.org/10.14719/PST.2020.7.2.653>
- 457 Sangakkara, U.R., Liedgens, M., Soldati, A., Stamp, P., 2004. Root and shoot growth of
458 maize (*Zea mays*) as affected by incorporation of *Crotalaria juncea* and *Tithonia*
459 *diversifolia* as green manures. *Journal Agronomy and Crop Science*, 190, 339–346.
460 <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00111.x>
- 461 Schinzoumka, P., Jean, A.N., Valère, T., 2016. Effects of *Acacia albida* and *Crotalaria*
462 *retusa* on the Growth and Development of Tomato. *Journal of Agriculture and*
463 *Ecology Research International*, 8 (3), 1–9. <https://doi.org/10.9734/jaeri/2016/26475>
- 464 Shennan, C., Krupnik, T.J., Baird, G., Cohen, H., Forbush, K., Lovell, R.J., Olimpi, E.M.,
465 2017. Organic and conventional agriculture: a useful framing? *Annual Review of*
466 *Environment and Resources*, 42, 317–346. <https://doi.org/10.1146/annurev-enviro>
- 467 Siddiqui, I.A., Shaukat, S.S., Khan, G.H., Zaki, M.J., 2002. Evaluation of *Argemone*
468 *mexicana* for control of root-infecting fungi in tomato. *Journal of Phytopathology*,
469 150 (6), 321–329. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2002.00762.x>
- 470 Singh, R., Chaubey, N., Mishra, R.K., 2021. Evaluation of Anti-Asthmatic Activity of
471 Ethanolic Extract of *Argemone mexicana* Stems. *Saudi Journal of Medical and*
472 *Pharmaceutical Sciences*, 7 (1), 39–44.
473 <https://doi.org/10.36348/sjmps.2021.v07i01.007>

- 474 Skinner, E.M., Díaz-Pérez, J.C., Phatak, S.C., Schomberg, H.H., Vencill, W., 2012.
475 Allelopathic effects of sunn hemp (*Crotalaria juncea* L.) on germination of vegetables
476 and weeds. HortScience, 47 (1), 138–142. <https://doi.org/10.21273/hortsci.47.1.138>
- 477 Steiner, A.A., 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired
478 composition. Plant and Soil, 15 (2), 134–154. <https://doi.org/10.1007/BF01347224>
- 479 Subaedah, S., Aladin, A., Nirwana., 2016. Fertilization of nitrogen, phosphor, and application
480 of green manure of *Crotalaria juncea* in increasing yield of maize in marginal dry
481 land. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 9, 20–25.
482 <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.114>
- 483 Tembo, Y., Mkindi, A.G., Mkenda, P.A., Mpumi, N., Mwanauta, R., Stevenson, P.C.,
484 Ndakidemi, P.A., Belmain, S.R., 2018. Pesticidal plant extracts improve yield and
485 reduce insect pests on legume crops without harming beneficial arthropods. Frontiers
486 in Plant Science, 9, 1425. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01425>
- 487 Walker, R.P., Chen, Z.H., Famiani, F., 2021. Gluconeogenesis in plants: A key interface
488 between organic acid/amino acid/lipid and sugar metabolism. Molecules, 26 (17),
489 5129. <https://doi.org/10.3390/molecules26175129>
- 490 Wen, D., Hou, H., Meng, A., Meng, J., Xie, L., Zhang, C., 2018. Rapid evaluation of seed
491 vigor by the absolute content of protein in seed within the same crop. Scientific
492 Reports, 8, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23909-y>
- 493 Zhang, Y., Ferrife, A.R., 2018. On the role of the tricarboxylic acid cycle in plant
494 productivity. Journal of Integrative Plant Biology, 60 (12), 1199–1216.
495 <https://doi.org/10.1111/jipb.12690>
- 496 Zhao, X., Joo, J.C., Kim, D., Lee, J.K., Kim, J.Y., 2016. Estimation of the seedling vigor
497 index of sunflowers treated with various heavy metals. Journal of Bioremediation &
498 Biodegradation, 7 (3), 1–6. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000353>

Conclusiones generales

Por primera vez se identificó el alcaloide de pirrolizidina 1 β ,2 β -epoxy-1 α -metoximetil-8 α -pirrolizidina del grupo de las iminoazúcares en hojas de *C. longirostrata*. El extracto metanólico de *C. longirostrata* mostró efectos letales en las ninfas de *B. cockerelli*, comenzando a partir de las 24 horas posteriores a la exposición. El análisis del extracto metanólico de las hojas de *A. mexicana* reveló la presencia predominante del alcaloide de bencilisoquinolina 5,7,8,15-Tetrahidro-3,4-dimetoxi-6-metil[1,3]benzodioxolo[5,6-e][2]benzazecin-14(6H)-ona, también conocido como alocriptopina. Además, se demostró que el extracto de *A. mexicana* ocasionó una mortalidad en las ninfas de *B. cockerelli*, tanto a las 48 como a las 72 horas posteriores a la exposición.

Durante un primer ensayo llevado a cabo en invernadero, se observó que los extractos metanólicos de las hojas de *C. longirostrata* y *A. mexicana* no producen efectos tóxicos en las plantas de tomate cuando se aplicaron las Concentraciones Letales medias (CL₅₀) y la CL₉₅.

En un segundo experimento realizado en invernadero, las plantas de tomate infectadas con *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso), que se trataron con la CL₅₀ y CL₉₅ del extracto metanólico de *C. longirostrata* promovieron el desarrollo del diámetro del tallo y la altura de las plantas. De manera similar, el uso de la CL₉₅ de ambos extractos dio como resultado el aumento del contenido de clorofila y nitrógeno en las hojas de las plantas de tomate infectadas. Además, se evaluó el contenido de fenoles totales en las plantas infectadas con CaLso y tratadas con diferentes dosis y aplicaciones de los extractos. Se observó un incremento significativo en el contenido de fenoles totales después de la primera y segunda aplicación de la dosis de 500 mg/mL del extracto metanólico de *C. longirostrata*, así como después de la tercera aplicación de la CL₅₀ del extracto metanólico de *A. mexicana*.

De acuerdo con estos resultados, se puede concluir que los extractos metanólicos derivados de las hojas de *C. longirostrata* y *A. mexicana* ofrecen una alternativa efectiva y prometedora para el manejo de *B. cockerelli* y *Candidatus Liberibacter solanacearum* en la producción de tomate en condiciones de invernadero. Reduciendo la dependencia de los plaguicidas convencionales y un mejor manejo integrado de plagas y enfermedades.