

EFFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE DIFERENTES ÓRGANOS DE LA PLANTA DEL CHILCUAGUE (*Heliopsis longipes*) EN GORGOJO (*Sitophilus granarius*)

Effect of the ethanolic extract of different organs of the chilcuague plant
(*Heliopsis longipes*) on weevil (*Sitophilus granarius*)

Ixchel Parola-Contreras, Juan Antonio Valencia-Hernández,
Nallely Solano-Álvarez, Ramón G. Guevara-González

Universidad Autónoma de Querétaro

Autor de correspondencia
ix.parola@gmail.com

RESUMEN

Las plagas en los cultivos son un problema al que se enfrentan los agricultores constantemente, inclusive cuando ya se ha cosechado y es necesario almacenar el producto. Los que se conocen comúnmente como gorgojos son una plaga de almacenamiento de granos que siguen siendo difíciles de controlar, debido a que la mayoría de los productos que se comercializan son muy tóxicos para quien los aplica y en muchos casos tienen un alto grado residual. De ahí que surge la necesidad de generar nuevos productos a base de compuestos alternativos que sean menos tóxicos para el ser humano y más amigables con el ambiente.

Durante este proyecto se evaluaron diferentes órganos de la planta, así como dos poblaciones de chilcuague de diferentes localidades de colecta. El resultado obtenido fue una mortalidad casi del 100% para el macerado de planta con procedencia de Concá. La propuesta de este trabajo es que macerados de diferentes partes de la planta de chilcuague son utilizables como un producto anti-gorgojos en almacenes de granos.

Palabras clave: macerado, plagas, granos, planta nativa, raíz, gorgojo

ABSTRACT

Pests in crops are a problem that farmers are constantly faced with, even when fields have already been harvested and it is necessary to store the product; those that are commonly known as weevils are a pest of grain storage and are still difficult to control, since most of the products that are marketed are very toxic for those who apply them and in many cases with residuality. Hence the need to generate new products based on alternative compounds that are less toxic and friendly with the environment.

Meanwhile in this project, different organs of the plant were evaluated; as well as, two

chilcuague plants from different locations. In conclusion, the result obtained was a mortality of almost 100% with the macerate of the plant from Concá. The proposal of this work is that macerates from different parts of the chilcuague plant are usable as an anti-weevil product in grain stores.

Keywords: macerates, pests, grains, native plant, root, weevil,

INTRODUCCIÓN

Los principales estados productores de grano en México son Sinaloa, Tamaulipas, Jalisco, Chiapas, Sonora, Querétaro, Guanajuato y Michoacán. En el año 2016 se reportó para el estado de Querétaro una producción de 31,347 toneladas, de entre las cuales se encuentran cebada, maíz, frijol y garbanzo [1].

La postcosecha es el conjunto de procesos técnicos y operativos que engloban desde el acopio de los granos hasta su comercialización, cuyo funcionamiento permite garantizar la conservación de granos para satisfacer la demanda del consumidor derivada de la dieta humana y por la previsión de resguardarlo para su aprovechamiento racional. Esta conservación del producto debe darse en óptimas condiciones fisicoquímicas y de salubridad [2].

A nivel internacional, las pérdidas postcosecha en granos almacenados promedian el 5%, sin embargo, en los países subdesarrollados estos porcentajes se incrementan hasta en un 30%. Para nuestro país estas pérdidas van en el orden de 10 a 30% [3, 4]. Entre otros factores, las pérdidas postcosecha se deben a la presencia de agentes bióticos como son aves, barrenador, gorgojo, gusano, hongos, palomilla, picudo y roedores. La pérdida reportada por el gorgojo (dentro del cual entra el picudo) es de 18.04% [5]. Hay aproximadamente 250 especies de insectos que dañan a los granos y sus productos durante el almacenamiento [6]. Hernández y Carballo [4] estiman que la pérdida de producción to-



tal de maíz, trigo y frijol oscila entre 5 y 25%. Los insectos de importancia económica que afectan los granos son palomillas de los graneros, palomillas de las harinas, coleópteros barrenadores, taladros y gorgojos [2]. Se estima que el daño por *Sitophilus granarius* es de 13% a nivel mundial.

En México, se registran alrededor de 25 especies de insectos que infestan semillas y granos almacenados, reduciendo la calidad fisiológica y física de la semilla y afectando la economía de los pequeños productores, en particular, de los de temporal [7]. *Sitophilus granarius*, también conocido como picudo, gorgojo de los graneros o gorgojo del trigo, ataca principalmente almacenamientos de arroz, avena, cebada, centeno, maíz, mijo, trigo y cereales quebrados. *Sitophilus granarius* [8] ronda preferentemente en áreas templadas y frías, mide de 3 a 4 mm de largo, es de color café oscuro casi negro y su tórax está densamente cubierto por depresiones ovaladas. Las hembras hacen perforaciones con las mandíbulas, dejan un huevo en su interior y sus larvas causan el principal daño, ya que consumen el endospermo y dejan un hueco [9].

El control del gorgojo puede ser físico, químico, biológico y agroecológico. Dentro de los controles químicos se encuentran los compuestos organofosforados, derivados del fósforo. Uno de estos compuestos es el fosfuro de hidrógeno o fosfina (PH_3) que es la sustancia activa que actúa como fumigante, se desprende de las tabletas de fosfuro de aluminio (AIP) en contacto con el agua del medio ambiente [10]. El gas fosfina tiene la capacidad de penetrar los empaques y productos, y así eliminar los diferentes estados de desarrollo de los insectos, a diferencia de los insecticidas, que no penetran los granos y no controlan los huevos, larvas ni pupas, de ahí la importancia de los fosfuros de aluminio y magnesio [11]. Sin embargo, los controles químicos tienen efectos negativos en los seres humanos debido a su alta capacidad de bioacumulación y la residualidad prolongada.

Este gas al liberar el compuesto volátil y liposoluble de tipo mitocondrial en concen-

traciones menores a 0.3 ppm puede detectarse por su olor, alterando el funcionamiento del impulso nervioso [12]. Los efectos en la salud humana a bajas dosis (0.02-1 ppm) son vértigo, tos, irritación pulmonar, náuseas, entre otros [13]. Es por esto, que el uso de productos naturales derivados de plantas es una alternativa viable económicamente, biodegradable y que cuida el equilibrio de los ecosistemas. Como control agroecológico se han empleado extractos de algunas plantas como *Pisum sativum*, *Vicia faba*, *Chenopodium ambrosioides*, *Argemone ochroleuca* y *Peumus boldus* [7].

El chilcuague es una planta endémica de la Sierra Gorda ubicada en los estados de Guanajuato, Querétaro y San Luis Potosí. Entre sus nombres comunes se conocen: chilcuán, pelitre, raíz de oro y raíz azteca por el sabor picante de la raíz [14]. La raíz de *H. longipes* es de importancia alimenticia, farmacéutica y medicinal para tratar enfermedades respiratorias y bucales. De la misma manera, al ser un anestésico local neutraliza la acidez estomacal y estimula el sistema inmunológico, desparasitante y desinflamante [15] por su contenido de azúcares, flavonoides, terpenos y alcanoides como la afinina. Las hojas tienen esteroides, terpenos y flavonoides [16]. La afinina (N-isobutil - 2,6,8 - dectrienoamida) destaca por su actividad insecticida, bactericida y fungicida [17], es un compuesto muy similar al piretro que se extrae de las flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* [18] y muestra el mismo grado de acción paralizante y de toxicidad contra insectos como la mosca doméstica (*Musca domestica*) [19], el lepidóptero *Diaphania hyalintia*, el díptero *Aedes aegypti* (vector del dengue), el mosquito vector del paludismo (*Anopheles albimanus*) [20, 21] y el gorgojo del frijol (*Acanthoscelus octectus* Say) [22]. La densidad letal media es de 234.09 ppm en el caso de ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae) [23]. Esta alcanida tiene aplicaciones como antimicrobiano [24], bacteriostático [25], fungicida agrícola [26], fungicida [27, 28], molusquicida [29] y larvicida [30].

El objetivo del presente artículo fue evaluar la acción bioinsecticida del extracto etanólico de diferentes órganos de *H. longipes* sobre adultos de *Sitophilus granarius* para determinar su potencial como insecticida natural en el manejo de esta plaga. El trabajo se realizó en el campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro. El diseño experimental utilizado en la investigación fue completamente al azar con 7 tratamientos y 3 repeticiones. Se realizaron muestreos a las 24 y 72 h para evaluar la mortalidad de los insectos.

METODOLOGÍA

La investigación se realizó durante 2018 en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería del campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro, ubicado en El Marqués, Querétaro, México (20.703333, -100.26583). El clima del sitio experimental es un clima predominante templado semiseco.

Toma de muestra de planta de chilcuague

Se utilizaron plantas de chilcuague (véase Figura 1), cultivadas en invernadero por un año, obtenidas de dos diferentes regiones: Xichú, Guanajuato y Jalpan de Serra, Querétaro. Las plantas de chilcuague se separaron en tres partes: raíz, parte aérea (tallo, hojas y nervaduras) y flor. Cada una de estas secciones de planta se trituró en trozos pequeños.



Figura 1. Imagen que contiene flores y follaje de planta de chilcuague de un año en etapa de floración.

Macerados de diferentes partes de la planta

Las plantas de chilcuague se dividieron en tres partes: raíz, parte aérea (tallo, hojas y nervaduras) y flor (véase Figura 2). Cada una de estas secciones de planta se trituró en trozos pequeños, los cuales se colocaron en matraces Erlenmeyer, se les agregó un volumen de 400 ml de etanol, se dejaron reposar en oscuridad por 48 h y transcurrido el tiempo se filtró el líquido.

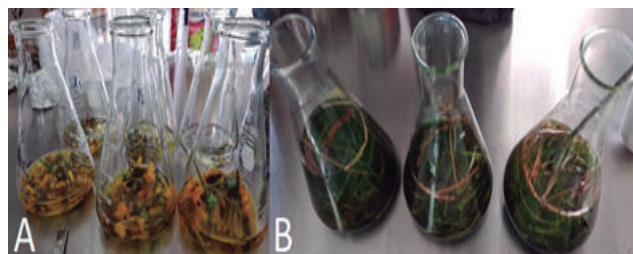


Figura 2. A) Extracto etanólico de flor Xichú de chilcuague, B) Extracto etanólico de hojas y tallos de chilcuague.

Aplicación de macerados en tratamientos con gorgojos

Se colectaron gorgojos en granos de cebada infestados, se colocaron 30 insectos por frascos y se aplicaron los diferentes tratamientos por aspersion (1 ml de macerado por unidad experimental). Los tratamientos aplicados fueron control (control químico), blanco (etanol grado alimenticio), raíz Xichú (raíz X), planta Xichú (planta X), flor Xichú (flor X), raíz Concá (raíz C), planta Concá (planta C), y flor Concá (flor C). Después de 24 h se cambió la tapa por una malla para permitir la aeración y se contaron los gorgojos sobrevivientes. Los insectos se contaron a las 24 y 72 h para calcular la tasa de mortalidad por tratamiento. Todos los tratamientos estuvieron a temperatura de 20-25° C.



Observación de daños a gorgojos

Después de transcurrir las 24 y 72 h se observaron los gorgojos muertos de cada tratamiento bajo un microscopio estereoscópico (Leica-DM500) con una ampliación visual de 5x, tomando como insectos muertos aquellos que no respondían ante un estímulo físico (Figura 3).

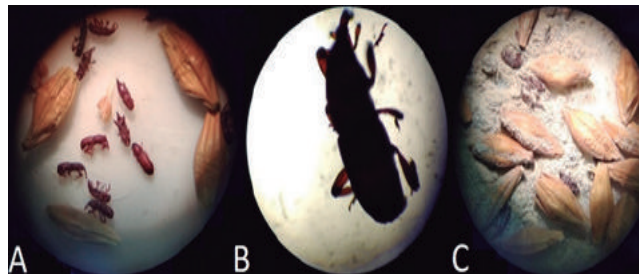


Figura 3. A) *Sitophilus granarius* a las 72 h. B) Acercamiento de *Sitophilus granarius*. C) *Sitophilus granarius* a las 72 h (Control- fluoruro de aluminio).

Diseño experimental

Se utilizaron 7 tratamientos con 3 repeticiones y una unidad experimental de 30 insectos en un diseño completamente al azar. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía por Tukey para parámetros individuales con un nivel de significancia de $p < 0.05$, utilizando el paquete estadístico Graph Pad PRISM software, versión 7.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar si el extracto etanólico de la raíz, follaje y flores de chilcuague tienen efecto larvicida contra gorgojos, se expusieron adultos a los extractos de los órganos del chilcuague durante 72 h. Los resultados muestran que el extracto etanólico causa que mueran los gorgojos, cabe mencionar que su efectividad depende del órgano de la planta. La primera observación se realizó a las 24 h, donde se encontró un porcentaje de mortalidad del 100% para los tratamientos control químico y raíz C, y 99% para la planta C. Dichos trata-

mientos obtuvieron una diferencia significativa con el tratamiento raíz X en el porcentaje de mortalidad del 47% (véase Figura 4).

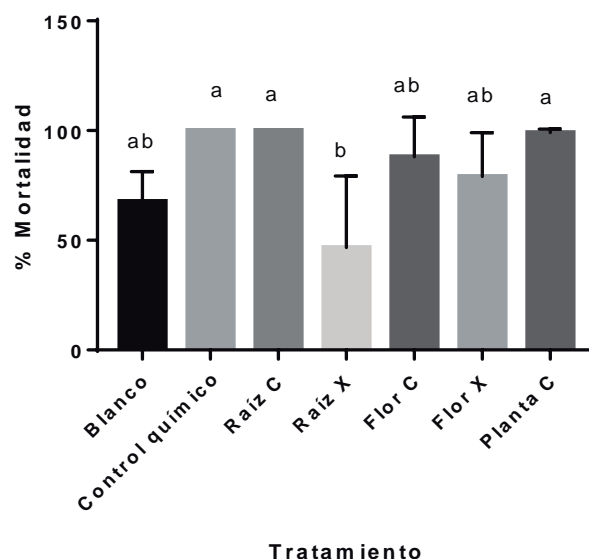


Figura 4. Resultados del porcentaje de mortalidad a las 24 h después de la aplicación con los diferentes tratamientos: control (fluoruro de aluminio), blanco (etanol), raíz Xichú (raíz X), planta Xichú (planta X), flor Xichú (flor X), raíz Concá (Raíz C), planta Concá (planta C) y flor Concá (Flor C).

La segunda observación se realizó a las 72 h, de acuerdo con el tiempo recomendado en el que hace efecto el fosforo de aluminio, el cual ya había causado la muerte del 100% de los insectos a las 24 h. Entre los tratamientos de control químico, raíz C, flor C y planta C no se observó alguna diferencia significativa, sin embargo, dichos tratamientos sí tienen una diferencia con respecto a la flor de Xichú y al blanco. La diferencia del porcentaje de mortalidad en el tratamiento con Planta C, con respecto al blanco, fue de 45.7% de mortalidad (véase Figura 5). Para los estadísticos de las Figuras 4 y 5 no se tomó en cuenta el blanco absoluto (insectos sin tratamiento alguno) debido a que en ambos casos fue menor al 10%, mostrando una diferencia significativa con respecto a todos los demás tratamientos.

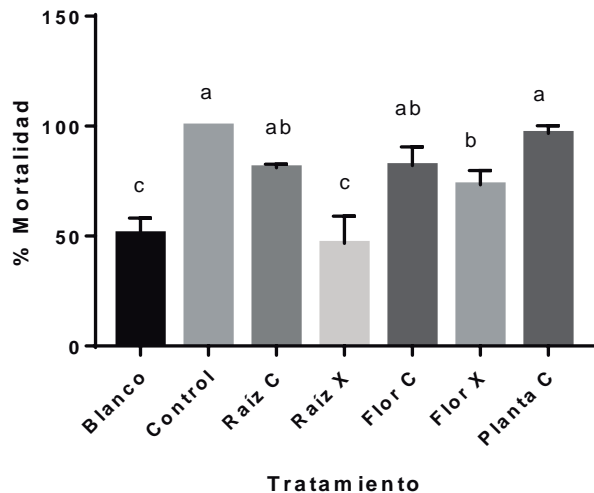


Figura 5. Resultados del porcentaje de mortalidad a las 72 h después de la aplicación con los diferentes tratamientos: control (fluoruro de aluminio), blanco (etanol), raíz Xichú (raíz X), planta Xichú (planta X), flor Xichú (flor X), raíz Concá (raíz C), planta Concá (planta C) y flor Concá (flor C).

En las observaciones a 24 y 72 h no se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos blanco y raíz X. Por otro lado, la flor de Xichú es el único tratamiento de chilcuague que presenta una diferencia significativa con respecto al control químico, lo que indica que el contenido de metabolitos en la planta de la población de Xichú es menor que los metabolitos contenidos en la planta de la localidad de Concá. No obstante, los tratamientos de raíz, planta y flor de Concá presentan una diferencia significativa con respecto al blanco y no muestran diferencia significativa con el control, ni entre tratamientos, lo que indica que los metabolitos, la afinina u otros metabolitos, no sólo se encuentran en la raíz como lo mencionan Hernández *et al.* [15], sino también en los demás órganos de la planta.

Al no tener diferencia significativa los tratamientos de la planta de la localidad de Concá, con respecto al control químico, se sugiere que los macerados tienen mayor efecto insecticida ante *Sitophilus granarius*, coincidiendo con lo reportado por Hernández *et al.* [20], quienes encontraron un efecto de la raíz del chilcuague contra insectos

como la mosca doméstica (*Musca domestica*), el lepidóptero *Diaphania hyalinta*, el díptero *Aedes aegypti* (vector del dengue) y el mosquito vector del paludismo (*Anopheles albimanus*). Así se le atribuye a la afinina ser el mayor compuesto insecticida en la raíz de chilcuague y se le confiere las propiedades curativas y nocivas en plagas [31]. También fue observada una alta toxicidad en la mosca doméstica (*Musca domestica*) de extractos de éter de petróleo de otras especies de *Helipopsis* americanas [32]. Además, la intensa actividad insecticida de la afinina fue detectada en ensayos de inhibición de la actividad nerviosa del cerco de la cucaracha americana o roja (*Periplaneta americana*), en dosis 3.8 más tóxicas que el lindano [33]. El extracto crudo de la raíz de chilcuague ha mostrado su actividad insecticida en larvas del gusano de la nariz (*Oestrus ovis*) que ocasiona la enfermedad de rinitis-sinusitis parasitaria en ovinos y caprinos [34].

La Figura 6 muestra la diferencia de mortalidad que hay entre tratamientos y entre las dos mediciones que se tomaron (a las 24 y 78 h), donde se observó que el porcentaje de mortalidad disminuye para el blanco (de 68% a 51%), raíz C (de 100% a 81%), flor C (de 88% a 82%), flor X (de 79% a 73%) y planta C (de 99% a 97%), lo cual se debe al efecto anestésico tanto del etanol como de la afinina. Por lo que el uso de extractos de plantas es una técnica recuperada para el control de plagas en semillas y granos por los principios activos, que sean biodegradables y manteniendo el equilibrio en los ecosistemas [7], tal cual se muestra en los resultados de esta investigación. Asimismo, la estructura de la afinina sugiere que el enlace insaturado 2E en la amida parcialmente reducida es la que confiere la actividad insecticida, al igual que los dobles enlaces de las posiciones 6Z y 8E [15].

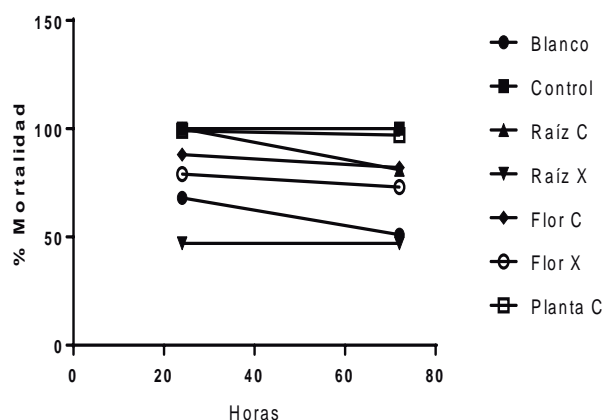


Figura 6. Comparación de los porcentajes de mortalidad a las 24 y 72 h después de la aplicación con los diferentes tratamientos: control (fluoruro de aluminio), blanco (etanol), raíz Xichú (raíz X), planta Xichú (planta X), flor Xichú (flor X), raíz Concá (raíz C), planta Concá (planta C) y flor Concá (flor C).

CONCLUSIONES

El extracto de chilcuague de los órganos de la planta como raíz, follaje y flor es una opción para el control del gorgojo (*Sitophilus granarius*) en la etapa de postcosecha de granos, debido a que los macerados de dicha planta pueden lograr una mortalidad de la plaga del 99% sin residualidad y sin causar daños en las personas que lo aplican ni en el medio ambiente. Es importante llevar a cabo una evaluación de la planta para identificar a aquellas poblaciones con una alta cantidad de metabolitos, ya que no todas las plantas contienen la misma concentración de estos, como con las plantas que proceden de Xichú. Se requiere realizar trabajos de investigación que le den continuidad a este proyecto como pruebas analíticas para la detección e identificación de los metabolitos del control del insecto en los tratamientos de extractos etanólicos de diferentes órganos de las plantas de Concá.

REFERENCIAS

[1] Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, "Reportes: avance de siembras y cosechas. Resumen por cultivo", 2018.

[Online]. Available: http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenDelegacion.do.

[2] R. Martínez Ruiz, G. E. Rojo Martínez, C. García Gutiérrez y B. Ramírez Valverde, *Tecnologías de Granos y Semillas*, México: Universidad Autónoma Indígena De México, 2009.

[3] S. García-Lara, C. Espinosa Carrillo y D. J. Bergvinson, *Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternativas para su manejo y control*, México: CIMMYT, 2007.

[4] J. A. Hernández Guzmán y A. Carballo Carballo, *Almacenamiento y conservación de granos y semillas*. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2018.

[5] B. Gerard, *Poscosecha de granos básicos en el medio rural, Programa de Intensificación Sustentable, Cento Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT)*, 2016. [Online]. Available: <https://www.cimmyt.org/es/intensificacion-sustentable/>

[6] S. Sharma, R. Kooner y R. Arora, "Insect Pests and Crop Losses," in *Breeding Insect Resistant Crops for Sustainable Agriculture*. Singapore: Springer, 2017.

[7] M. Mendoza, G. Rodríguez, L. P. Guevara, E. Andrio, J. A. Rangel, J. G. Rivera y F. Cervantes, "Bioinsecticidas para el control de plagas de almacén y su relación con la calidad fisiológica de la semilla," *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 7, no. 7, pp. 1599-1611, 2016.

[8] C. Linnaeus, *Systema Naturae per Regna Tria Naturae, secundum Classes, Ordines, Genera, Species, cum Characteribus, Differentiis, Synonymis, Locis*. Reformata. Laurentii Salvii: Holmiae, p. 824, 1758.

[9] B. C. Longstaff, "Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): a critical review," *Protection Ecology*, vol. 2, pp. 83-130, 1981.

[10] M. Reyna Medina, G. F. Vázquez de Anda and J. García Monroy, "Revisión de la intoxicación aguda por fosforo de aluminio," *Crítica y terapia intensiva*, vol. 26, no. 4, pp. 242-246, 2012.

- [11] M. Reyna, A. Vázquez y M. García, "Revisión de la intoxicación aguda por fosforo de aluminio". *Revista de la Asociación Mexicana de Medicina Crítica y Terapia Intensiva*, vol. 26, no. 4, pp. 242-246, 2012.
- [12] D. G. Fernández A., L. C. Mancipe G. and D. C. Fernández A., "Intoxicación por organofosforados,". *Revista Medicina*, vol. 8, no. 1, pp. 84-92, 2010.
- [13] F. Arredondo Trujillo, M. P. Hurtado Pérez and Y. Castañeda Borrayo, "Intoxicación por fosfina en el personal sanitario," *Gaceta Médica de México*, vol. 147, pp. 350-354, 2011.
- [14] V. G. Cilia-López, J. R. Aguirre-Rivera, J. A. Reyes-Agüero and B. I. Juárez-Flores, "Etnobotánica de *Heliopsis Longipes* (Asteraceae: Heliantheae)," *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, vol. 83, pp. 81-89, 2008.
- [15] A. Hernández-Morales, J. L. Arvizu-Gómez, C. Carranza-Álvarez, B. E. Gómez-Luna, B. Alvarado-Sánchez, E. Ramírez-Chávez y J. Molina-Torres, "Larvicidal activity of affinin and its derived amides from *Heliopsis longipes* A. Gray Blake against *Anopheles albimanus* and *Aedes aegypti*," *Journal of Asia-Pacific Entomology*, vol. 18, no.2, pp. 227-231, 2015.
- [16] M. Ríos, "Natural Alkamides: Pharmacology, Chemistry and Distribution," *Drug Discovery Research in Pharmacognosy*, 2012.
- [17] S. González Morales, M. L. Flores López, A. Benavides Mendoza and A. Flores Olivas, «Actividad Inhibitoria del extracto de *Heliopsis longipes* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*," *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 29, no. 2, pp. 146-153, 2011.
- [18] J. E. Casida, "Pyrethrum Flowers and Pyrethroid insecticides," *Environmental Health Perspectives*, vol. 34, pp. 189-202, 1980.
- [19] M. Jacobson, F. Acree y H. L. Haller, "Correction of the source of "affinin" (N-Isobutyl-2,6,8-decatrienoamide)," *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 12, pp. 731-732, 1947.
- [20] A. Hernández-Morales, J. L. Arvizu-Gómez, B. E. Gómez- Luna, E. Ramírez-Chávez, M. d. R. Abraham-Juárez, G. Martínez-Soto and J. Molina-Torres, "Determinación de La Actividad Insecticida de *Heliopsis Longipes* A. Gray Blake, Una Planta Endémica Del Estado de Guanajuato" *Ra Ximhai*, vol. 8, no.3, pp. 111-118, 2012.
- [21] F. Acree and M. Jacobson, "An amide possessing insecticidal properties from the roots of *erigeron affinis* dc," *The journal of organic chemistry*, 2002.
- [22] J. A. Domínguez, D. G. Leal and D. M. A. Viñales, "Síntesis de N-isopropil y N-isobutilamida de algunos ácidos y comparación de su acción insecticida con la afinina," *Ciencia*, vol. 17, 1958.
- [23] M. Beltrán Beache, E. Cerna Chávez, J. C. Delgado Ortiz and Y. M. Ochoa fuentes, "Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* (A. Gray) S. F. Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae)," *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, no 66, pp. 12-15, 2015.
- [24] J. Molina-Torres, A. García-Chávez and E. Ramírez-Chávez, "Antimicrobial properties of natural alkamides traditionally used in Mesoamerica: Affinin and Capsaicin," *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 64, pp. 241-248, 1999.
- [25] J. Molina-Torres, C. J. Salazar-Cabre-ra, C. Armenta-Salinas and E. Ramírez-Chávez, "Fungistatic and Bacteriostatic Activities of Alkamides from *Heliopsis longipes* Roots: Affinin and Reduced Amides," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, pp. 4700-4704, 2004.
- [26] R. Salgado-Garciglia, J. Molina-Torres, J. E. López-meza and P. D. Loeza-lara, "Effect of crude extract and bioactive compounds of *Heliopsis longipes* on anthracnose incidence, mycorrhization, and nodulation of bean," *Agrociencia*, vol. 42, pp. 679-688, 2008.
- [27] S. González Morales, M. L. Flores López, A. Benavides Mendoza y A. Flores Olivas, "Actividad Inhibitoria del Extracto de *Heliopsis longipes* Sobre *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici*," *Revista mexicana de fitopatología*, vol. 29, no.2, pp. 146-153, 2011.
- [28] E. Ramírez-Chávez, L. Lucas-Valdez, G. Virgen-Calleros and J. Molina-Torres, "Actividad fungicida de la afinina y del extracto



crudo de raíces de *Heliopsis longipes* en dos especies de *Sclerotium*," *Agrociencia*, vol. 34, no. 2, pp. 207-215, 2000.

[29] V. G. Cilia-López, J. A. Reyes-Agüero, J. R. Aguirre-Rivera and B. I. Juárez-Flores, "Ampliación de la descripción y aspectos taxonómicos de *Heliopsis longipes* (Asteraceae: Heliantheae)," *Polibotánica*, vol. 36, pp. 1-13, 2013.

[30] A. Hernández-Morales, J.-L. Arvizu-Gómez, B. E. Gómez-Luna, E. Ramírez-Chávez, M. d. R. Abraham-Juárez, G. Martínez-Soto y J. Molina-Torres, "Determinación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, una planta endémica del estado de Guanajuato," *Ra Ximhai*, vol. 8, no.3, pp. 111-118, 2012.

[31] M. Jacobson, "Constituents of *Heliopsis* Species. III. cis-trans Isomerism in Affinin," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 76, pp. 4606-4608, 1954.

[32] H. Greger, "Alkamides: a critical reconsideration of a multifunctional class of unsaturated fatty acid amides," *Phytochemistry Reviews*, vol. 15, no. 5, pp. 729-770, 2016.

[33] H. A. Kadir, M. B. Zakaria, A. A. Kechil, and M. D. S. Azirun, "Toxicity and electrophysiological effects of *Spilanthes amella* Murr. extracts on *Periplaneta americana* L.," *Journal of Pesticide Science*, vol. 25, no. 4, pp. 329-335, 1989.

[34] R. A. R. Del Castillo, "Efecto insecticida in vitro de la raíz de chilcúan (*Heliopsis longipes*) sobre las larvas de la mosca *Oestrus ovis*," *Universidad Nacional Autónoma de México*, 1983.