



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**



INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PLAGUICIDA DE UN
EXTRACTO DE *CAPSICUM ANNUUM* L.VAR.
GLABRIUSCULUM BASADO EN MODELADO AMBIENTAL**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

Sofía Angélica García Vargas

Directora de tesis:

Dra. Laura Morales Lara



Octubre 2023



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES



"La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra"

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD PLAGUICIDA DE UN
EXTRACTO DE *CAPSICUM ANNUUM* L.VAR.
GLABRIUSCULUM BASADO EN MODELADO
AMBIENTAL**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

Sofía Angélica García Vargas

Comité tutorial:

Directora	Dra. Laura Morales Lara
Co-Director	Dr. Vladimir Serkin
Tutora	Dra. Gladys Linares Fleites
Integrante Comité Tutorial	Dr. Eduardo Torres Ramírez
Integrante Comité Tutorial	Dr. J Santos Hernández Zepeda
Integrante Comité Tutorial	Dra. Edith Chávez Bravo

Octubre 2023

CONTENIDO

1.- INTRODUCCIÓN	14
2. JUSTIFICACIÓN	15
3. MARCO DE REFERENCIA.....	16
3.1 Historia e identificación botánica de <i>Capsicum annuum L. var. Glabriusculum</i>	16
3.2 Composición fisicoquímica del chiltepín	17
3.2.1 Contenido de capsaicinoides en chiltepín	19
3.3 Antecedentes de uso de capsaicinoides como bioplagicidas	19
3.3.1 Compuestos extraídos del chile con actividad plaguicida	20
3.4 <i>Arabidopsis thaliana</i> como modelo <i>in vitro</i> de estudio.....	21
3.4.1 Uso de <i>Arabidopsis thaliana</i> en pruebas con extractos orgánicos	22
3.5 Importancia de la calabaza en la alimentación	23
3.6 Cultivo de calabaza como modelo para probar los efectos de capsaicinoides.....	24
3.7 <i>D. magna</i> : modelo ecotoxicológico en el estudio de plaguicidas	25
3.8 Modelo de Gompertz en predicciones ecotoxicológicas.....	25
3.9 Ecoexergía como parámetro holístico	26
3.10 Aplicación de ecoexergía en evaluaciones ambientales.....	28
3.11 Redes neuronales de aprendizaje profundo	29
3.12 Aplicaciones de las redes neuronales	30
3.13 Seguridad y soberanía alimentaria en México	31
3.14 Marco agrícola de las comunidades rurales en México.....	32
3.15 Marco conceptual	32
3.15.1 Tipo de investigación	32
3.15.2 Paradigma	33
3.15.3 Enfoque epistémico.....	35
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	35

4.1 PREGUNTA CIENTÍFICA	35
5. HIPÓTESIS	35
6. OBJETIVO GENERAL.....	36
6.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
7. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	36
8. METODOLOGÍA	37
8.1 Recolección e identificación botánica de la especie de chiltepín	37
8.2 Obtención del extracto etanólico asistido por ultrasonido (UAE).....	38
8.3 Cuantificación del contenido de capsaicina por espectrofotometría.....	39
8.4 Efecto fitotóxico de los extractos en semillas de <i>Arabidopsis thaliana</i> a largo plazo.....	39
8.5 Evaluación del efecto fitotóxico en plántulas de <i>Arabidopsis thaliana</i>	40
8.6 Evaluación del extracto como promotor de crecimiento de <i>Arabidopsis thaliana</i>	40
8.7 Prueba antifúngica de los extractos etanólicos en <i>Alternaria</i> spp.	41
8.8 Cálculo de ecoexergía en el modelo in vitro <i>Arabidopsis thaliana</i>	41
8.9 Aplicación de tratamientos en cultivo de <i>Curcubita pepo</i> infectado	43
8.9.1 Análisis de suelo utilizado en el estudio	44
8.10 Ecuaciones alométricas para estimar biomasa fresca en <i>Curcubita pepo</i>	45
8.11 Estimación de la biomasa de carbono en el modelo in vivo <i>Cucurbita pepo</i>	45
8.12 Cálculo de ecoexergía del cultivo <i>Curcubita pepo</i> L. en los tratamientos	46
8.13 Encuesta para la identificación de plaguicidas y prácticas de uso en el municipio de Venustiano Carranza.	47
8.14 Prueba ecotoxicológica del plaguicida comercial en <i>D. magna</i>	47
8.15 Prueba ecotoxicológica en <i>D. magna</i> de los extractos etanólicos de chiltepín.....	47
8.16 Modelo matemático predictivo de la ecotoxicología crónica de EECS, EESS y Foley Rey® en <i>Daphnia magna</i>	48
8.17 Modelado complejo ambiental de la ecoexergía en <i>Curcubita pepo</i> L., por red neuronal	49

8.17.1 Evaluación del desempeño de la red neuronal multicapa	49
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
9.1 Formulación de un plaguicida a partir de un extracto etanólico de <i>Capsicum annum L. var. Glabriusculum</i>	49
9.1.1 Obtención y caracterización de la especie <i>Capsicum annum L.</i> del municipio de Venustiano Carranza	49
9.1.2 Obtención y cuantificación del contenido de capsaicina en los extractos etanólicos de chiltepín	52
9.1.3 Efecto antifúngico del extracto de chiltepín sobre el fitopatógeno <i>Alternaria spp.</i>	55
9.1.4 Efectos de extractos etanólicos de chiltepín en el modelo <i>in vitro Arabidopsis thaliana</i>	57
9.1.5 Modelación matemática de los efectos de los extractos en el cultivo de <i>Arabidopsis thaliana</i>	60
9.2 Encuesta aplicada a los agricultores del municipio de Venustiano Carranza, Puebla sobre el uso de plaguicidas	63
9.3 Efectos de los extractos etanólicos de <i>Capsicum annum L. var. Glabriusculum</i> y un plaguicida de uso común sobre cultivo de calabaza infectada.....	67
9.4 Evaluación ecotoxicología aguda de EECS, EESS y Foley Rey® en el modelo <i>Daphnia magna</i>	71
9.5 Evaluación ecotoxicología crónica de EECS, EESS y Foley Rey® en el modelo <i>Daphnia magna</i>	72
9.6 Modelo matemático del desarrollo poblacional de <i>D. magna</i> expuesta crónicamente a EECS, EESS y Foley Rey®	76
9.7 Modelado complejo del cálculo de ecoexergía en un cultivo infectado de <i>Curcubita pepo L.</i>	78
9.7.1 Evaluación del desempeño del modelo ambiental	83
10. CONCLUSIÓN	85
11. BIBLIOGRAFÍA	86

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de chiltepín del municipio de Venustiano Carranza.	17
Figura 2. Estructura química de capsaicina (a) y dihidrocapsaicina (b). Extraído de Stan <i>et al.</i> , 2021.	18
Figura 3. Ilustración de los 4 estadios que experimenta la semilla de <i>Arabidopsis thaliana</i> durante el proceso de germinación. A) Estadio I (12-24h). B) Estadio II (24-36h). C) Estadio III (36-48h). D) el estadio IV (48-72h) (Arc <i>et al.</i> , 2013).	22
Figura 4. Ejemplo de una estructura de perceptrón multicapa (Argente <i>et al.</i> , 2022).	30
Figura 5. Diagrama de trabajo del tema de investigación	37
Figura 6. Zonas de recolección de chiltepín en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla con sus respectivas coordenadas geográficas.	37
Figura 7. Frutos de chiltepín en estado de madurez. Muestras de chiltepín silvestre de la zona de Villa Lázaro Cárdenas, Puebla. Imagen propia.	38
Figura 8. Extracto de chiltepín. a) Extracto etanólico con semilla (EECS), b) Extracto etanólico sin semilla (EESS). Obtención mediante baño ultrasónico, realizada a 55 °C y 40 kHz durante 25 minutos.	39
Figura 9. Análisis de morfología del hongo aislado <i>Alternaria</i> spp. A) Morfología en placa de <i>Alternaria</i> spp., a los 4 días de incubación, B) Morfología en placa de <i>Alternaria</i> spp. a los 8 día de incubación, C) Morfología en microscópico de <i>Alternaria</i> spp. a 40X sin tinción.	41
Figura 10. Muestreo en tresbolillo	44
Figura 11. Especies de chiltepín silvestre analizadas. a) Muestra de espécimen en la zona 1 y b) Muestra del espécimen en la zona 2.	52
Figura 12. Espectros UV de los extractos con y sin semilla obtenidos de chiltepín (<i>Capsicum annum</i> L. var <i>glabriusculum</i>). Espectros de 230 a 280 nm.	53
Figura 13. Espectros UV de diferentes concentraciones del estándar capsaicina. (A) Barrido espectral de capsaicina de 230 a 280 nm. (B). Curva de calibración de capsaicina.	54

- Figura 14. Crecimiento *Alternaria* spp. a las 168 h en los tratamientos con EECS, EESS y ETOH. 55
- Figura 15. Evaluación de la inhibición del crecimiento de *Alternaria* spp., durante 7 días. Se muestra el efecto de los extractos EECS, EESS y ETOH sobre el crecimiento radial del hongo fitopatógeno. Diferencias $p < 0.05$ mediante el estadístico suma de rangos de Wilcoxon. 56
- Figura 16. Porcentaje de germinación de *Arabidopsis thaliana* por día. Las diferencias entre días fueron confirmadas mediante una prueba suma de rangos de Friedman $p < 0.05$, diferencias entre grupos por días prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis con un $p < 0.05$. 58
- Figura 17. Cambios fisiológicos en plántulas de *Arabidopsis thaliana* de 7 días de edad expuestas a EECS, EESS y ETOH durante 20 días. (a) Registro del largo del tallo, (b) Registro del ancho de la hoja, (c) Registro del largo de la hoja. Diferencias $p < 0.05$ señaladas por letras. 60
- Figura 18. Ecoexergía específica de *Arabidopsis thaliana* expuesta a concentraciones de CE_{50} durante 72h. A partir del peso fresco de las plántulas expuestas a EESS, EECS y ETOH. 61
- Figura 19. Diferencia de ecoexergía en la exposición aguda en *Arabidopsis thaliana*. Se realizó con base al peso registrado de las plántulas al final de la exposición con EESS, EECS y ETOH. 62
- Figura 20. Ecoexergía específica de la exposición crónica con EESS, EECS y ETOH en modelo *Arabidopsis thaliana*. 62
- Figura 21. Diferencia de ecoexergía de la exposición crónica en el modelo *Arabidopsis thaliana* en los tratamientos EESS, EECS y ETOH. La diferencia de ecoexergía se hizo con base al promedio registrado de las plántulas al día 5, 10, 15 y 20 con respecto las expuestas a los extractos. 63
- Figura 22. Descripción de la población encuestada con actividad agrícola en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla. A) Sexo de las personas encuestadas, B) Intervalos de edad de los encuestado, C) Grado de escolaridad de los encuestados y D) Actividad principal de los agricultores. 64

Figura 23. Plaguicidas más utilizados en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla. Resultados de la entrevista realizada en el año 2022.	65
Figura 24. Plagas registradas por los agricultores en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla. Resultados de la entrevista aplicada en 2022.	65
Figura 25. Compuestos activos de los plaguicidas y su toxicidad por categoría. A) Compuestos activos de los plaguicidas empleados en el municipio de Venustiano Carranza, B) Categoría a la cual corresponden los compuestos activos registrados de acuerdo con la OMS.	66
Figura 26. Toma de decisiones para la elección del plaguicida y la dosis a utilizar. A) Elección del plaguicida y la cantidad a utilizar de acuerdo con los entrevistados, B) Frecuencias con la cual se aplican los plaguicidas.	67
Figura 27. Propiedades que debe tener un plaguicida orgánico de acuerdo con los entrevistados. A) Características que busca el agricultor, B) Tipo de plagas a controlar.	67
Figura 28. Enfermedades identificadas en el cultivo de calabaza previo al tratamiento.	68
Figura 29. Ecoexergía calculada en cultivo de calabaza infectada en los tratamientos al día 1, 4, 8, 12 y 20. Diferencias significativas señaladas por letras ANOVA $p < 0.005$.	69
Figura 30. Diferencia de ecoexergía en los cultivos de calabaza infectada al día 1, 4, 8, 12 y 20. Diferencias significativas señaladas por letras ANOVA $p < 0.005$.	69
Figura 31. Comparativa fotográfica de los cultivos de calabaza al inicio y final del monitoreo.	71
Figura 32. Frutos recolectados al día 20 de monitoreo en cultivos tratados con EECS (A) y EESS (B).	71
Figura 33. Distribución población de <i>D. magna</i> expuesta a EECS, EESS y Foley Rey® durante 19 días.	75
Figura 34. Efecto de EECS, EESS y Foley Rey® en la natalidad de <i>D. magna</i> . La natalidad se calculó con el número promedio de nacimientos por cada 10 hembras. Las diferencias significativas son señaladas con letras ($P < 0.05$), ANOVA de una vía.	75

Figura 35. Mudas registradas en los tratamientos durante el periodo de monitoreo.	76
Figura 36. Simulación matemática de una población <i>D. magna</i> expuesta a EECS, EESS y Foley Rey®.	77
Figura 37. Arquitectura de la red neuronal para la predicción de ecoexergía en <i>Cucurbita pepo</i> expuesta a los tratamientos EECS, EESS, Foley Rey®, Foley Rey®-EECS y Foley Rey®-EESS.	80
Figura 38. Matriz de confusión de la salida “ecoexergía” de la red neuronal.	83
Figura 39. Precisión del modelo vs el número de épocas de entrenamiento	84
Figura 40. Gráficos de los pesos sinápticos de los parámetros ingresados en la red neuronal	85

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características morfológicas que distinguen a las especies domesticadas de <i>Capsicum</i> entre sí y de sus posibles progenitores silvestres.	17
Tabla 2. Conceptos sobre ecoexergía utilizados en estudios ambientales	27
Tabla 3. Tratamientos utilizados en el cultivo <i>Cucurbita pepo</i> L. en Venustiano Carranza, Puebla.	43
Tabla 4. Modelos de regresión lineal para estimar la biomasa fresca de <i>Curcubita pepo</i> L.	45
Tabla 5. Datos de la regresión lineal del porcentaje de pérdida de agua en las muestras	46
Tabla 6. Datos recolectados por zona de los especímenes <i>Capsicum annum</i> L. del municipio Venustiano Carranza, Puebla.	51
Tabla 7. Análisis de componentes principales de las características evaluadas en las plantas de <i>Capsicum annum</i> L.	51
Tabla 8. Valores del Espacio de color Lab del estado de madurez de frutos de chiltepín	52
Tabla 9. Contenido de capsaicina por peso seco de frutos maduros de chiltepín	54

Tabla 10. Efecto antifúngico de los extractos de chiltepín sobre el crecimiento de <i>Alternaria</i> spp.	56
Tabla 11. Efecto fitotóxico de los extractos etanólicos de chiltepín	58
Tabla 12. Información utilizada en la modelación matemática	60
Tabla 13. Precio de los extractos etanólicos de chiltepín	71
Tabla 14. Efecto de los tratamientos en parámetros de historia de vida en una población de <i>D. magna</i>	73
Tabla 15. Pesos sinápticos del modelo con mejor ajuste	81

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría comenzar expresando mi profunda gratitud hacia las personas que han contribuido de forma invaluable en este trabajo. Sin su colaboración, conocimientos, paciencia y apoyo inquebrantable este trabajo no habría sido posible. Me siento enormemente afortunada y agradecida por contar con su respaldo.

En particular, deseo extender mi más sincero agradecimiento a mis directores de tesis, la Dra. Laura Morales Lara y el Dr. Vladimir Serkin. La Dra. Morales Lara ha sido mi guía constante, brindándome orientación, correcciones minuciosas y la oportunidad de perfeccionar este trabajo. Al Dr. Serkin, le agradezco su inmensa calidad científica y humana.

Así también no puedo pasar por alto el agradecer al Dr. Ricardo Darío Peña Moreno, por sus valiosos comentarios científicos y apoyo en todo momento. La retroalimentación que ha realizado a mi trabajo lo ha enriquecido enormemente. Además, quiero expresar mi gratitud al Dr. Carlos Alberto Contreras Paredes por sus contribuciones significativas a esta investigación.

Así también quiero agradecer sinceramente a mis compañeros de laboratorio Yessica Alejandra Linares González, Paloma, Adrián Gustavo y Teresa Larios por su apoyo constante y amistad.

También deseo expresar mi más profundo agradecimiento a mi familia, a mi madre Evelyn Vargas Vizuet, mis padres Luis Vargas Vizuet y Noe Julio Vargas Vizuet, quienes han sido mi fuente constante de apoyo y aliento. Y a mi prometido Luis Javier Guzmán Acuña, quien me ha motivado a perseverar y mantenerme firme incluso en las circunstancias más complicadas.

Esta investigación no podría haber sido realizada sin el apoyo de CONACYT con la beca nacional de maestría.

“Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Eje IV. Modelo de investigación abierta y compartida. Objetivo 13. Formar recursos humanos que impacten positivamente el contexto social y científico como consecuencia de su accionar en una comunidad para lograr una educación desarrolladora de la transformación. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2021 - 2025”

DEDICATORIA

Este trabajo lo quiero dedicar a mi madre Evelyn Vargas Vizuet gracias a su amor, dedicación y comprensión sigo preparándome, así mismo a mis tíos y también padres Luis Vargas Vizuet y Noe Julio Vargas Vizuet. En especial a mi prometido Luis Javier Guzman Acuña quien me apoyo sentimental y moralmente, su apoyo inquebrantable ha sido un regalo invaluable.

1.- INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Capsicum* spp. es de gran importancia agrícola y económica en países de América Latina, Asia y África. Los frutos de *Capsicum* spp., son utilizados en colorantes naturales, conservantes de alimentos, ingrediente en productos farmacéuticos y aerosoles de autodefensa (Razo *et al.*, 2021). El chiltepín (*C. Annuum* L. var. *Grabliuscolum*) es una variedad silvestre de *C. annuum* (González *et al.*, 2011) y forma parte de la cultura y economía en las sociedades rurales de Puebla (Bañuelos *et al.*, 2008). En el municipio de Venustiano Carranza, Puebla, no existe registro de superficie de producción, sin embargo, se le considera un producto de alto valor económico (Sandoval *et al.*, 2018).

Por otro lado, la pungencia en *C. annuum* se debe a los capsaicinoides; los dos más abundantes son la capsaicina (8-metil-N-vanillyl-trans-6-nonenamida) y la dihidrocapsaicina (8-metil-N nillyl-trans-6-nonenamida) (Stan *et al.*, 2021). Los capsaicinoides son 1000 veces más picantes que los capsinoides, característica de interés, debido a su efecto antibacteriano, fungicida, bacteriostático, bactericida e insecticida (Fayos *et al.*, 2018, Li *et al.*, 2019); con base en estos estudios, se propone a los capsaicinoides como alternativa a los pesticidas químicos, y asimismo atender la problemática ambiental generada por el abuso de estos (Yadav *et al.*, 2015), evitando la incorporación de compuestos químicos a cuerpos de agua dulce en concentraciones que amenacen la salud de los organismos en el ecosistema (Claros *et al.*, 2019). La formulación de un plaguicida orgánico obtenido de frutos maduros de chiltepín provenientes del municipio de Venustiano Carranza Puebla; consistió en analizar sus características plaguicidas en laboratorio y en campo. El efecto plaguicida de extractos etanólicos de chiltepín con semilla (EECS) y sin semilla (EESS) se evaluó *in vitro* con el modelo biológico *Arabidopsis thaliana*, así como en cultivos puros del fitopatógeno *Alternaria* spp. que afecta a cultivos de importancia agrícola como la calabaza (*Cucurbita pepo* L.). Al modelo *in vivo* del estudio se le aplicó EECS, EESS, así como Foley® Rey, un plaguicida comercial de uso común en el municipio. La viabilidad de la propuesta del uso de extractos etanólicos de chiltepín con presencia de capsaicinoides se realizó mediante el

concepto de ecoenergía, al cual se le midió el aprovechamiento energético con base en la biomasa registrada en las plantas tratadas (Ulanowicz *et al.*, 2006). Los efectos ecotoxicológicos del producto Foley® y los extractos etanólicos de chiltepín se evaluaron en el modelo *Daphnia magna*, el cual permitió esclarecer mecanismos de toxicidad aguda y crónica en la cadena trófica. Este organismo al ser un indicador biológico (Kim *et al.*, 2017, Orsini *et al.*, 2018) posee bondades en laboratorio como una alta sensibilidad a compuestos, periodo de vida corto, fácil cultivo y reproducción partenogenética (Altshuler *et al.*, 2011). Los resultados obtenidos fueron modelados matemáticamente como resultado de un estudio integrado del análisis realizado en laboratorio y campo. La propuesta de un plaguicida orgánico obtenido de frutos maduros de chiltepín proveniente del municipio de Venustiano Carranza, perteneciente a la Sierra Norte de Puebla; tendrá como perspectiva, minimizar los impactos generados sobre el medio ambiente (Foley *et al.*, 2011), promoviendo la soberanía alimentaria del agricultor de comunidades rurales de la Sierra Norte de Puebla.

2. JUSTIFICACIÓN

El uso de compuestos químicos en el combate de plagas y enfermedades en la agricultura ha provocado severas pérdidas de flora y fauna, así como un daño a la salud humana, repercutiendo en la dinámica ambiental. Su uso indiscriminado deriva del incremento en la demanda de alimentos en respuesta al aumento de la población a nivel mundial. Por lo que, en la presente investigación, se propone la formulación de un plaguicida orgánico obtenido a partir de extractos etanólicos de chiltepín (*Capsicum annuum L. var. Glabriusculum*) proveniente del municipio Venustiano Carranza, Puebla, como alternativa biodegradable al uso de los plaguicidas químicos. La propuesta de un plaguicida orgánico a partir de extractos etanólicos de chiltepín es una alternativa que permitirá a los agricultores producir alimentos en un esquema de seguridad y soberanía alimentaria al minimizar o eliminar el uso de compuestos químicos, asegurando los recursos y el derecho a una alimentación segura.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1 Historia e identificación botánica de *Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum*

El género *Capsicum* (Solanaceae) está constituido por alrededor de 30 especies. El chile (género *Capsicum*) fue una de las primeras plantas domesticadas en el Continente Americano (Hernández *et al.*, 1999). En México se han domesticado a las especies *C. annuum* y *C. frutescens*, las que se encuentran en poblaciones silvestres con una gran variabilidad morfológica y genética. El chile ha sido parte importante en la cultura y la alimentación de la población mexicana, su papel en la historia de las culturas prehispánicas y en la época de la colonia está ampliamente documentada tanto en los códices como en los relatos de los cronistas de la conquista (Long-Solís, 1986) ubicándose incluso entre una de las siete hortalizas más cultivadas a nivel mundial con una producción aproximada de 24 millones de toneladas (Latournerie *et al.*, 2015). En el año de 1979, la FAO propuso al género *Capsicum* como cultivo de alta prioridad para estudios de conservación, por su importancia económica y la pérdida del alto grado de variabilidad natural que presentan las plantas (Caughey *et al.*, 2020).

En México se cultivan las especies *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. jubescens*, de estas cinco especies domesticadas, *C. jubescens* y *C. baccatum* son fáciles de distinguir, mientras que para los taxa del complejo *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens* no existen caracteres morfológicos distintivos únicos (Tabla 1), por lo cual es más factible tomar algunos caracteres distintivos en conjunto (Hernández *et al.*, 1999). De estas especies de chile, *C. annuum* es la más importante, económicamente, ya que se cultiva en todas las regiones agrícolas del país, mientras que las otras tres especies restantes se cultivan en la región sureste (Hernández *et al.*, 1999).



Figura 1. Planta de chiltepín del municipio de Venustiano Carranza.

3.2 Composición fisicoquímica del chiltepín

El ‘Chiltepín’ es un chile muy popular en México debido a su picor, sabor y aroma, que lo vuelve muy apreciado en la gastronomía mexicana (Hayano *et al.*, 2015). Se ha determinado que algunas de las propiedades antioxidantes, analgésicas, antiinflamatorias y anticancerígenas son atribuidas a la presencia de los capsaicinoides y capsinoides (Fayos *et al.*, 2018), estos compuestos son sintetizados en la placenta del fruto (Estrada *et al.*, 2000).

Tabla 1. Características morfológicas que distinguen a las especies domesticadas de *Capsicum* entre sí y de sus posibles progenitores silvestres.

Especie	Cáliz dentado	Constricción en el cáliz	Color (tamaño y forma) de la corola	Núm. de flores por nudo	Color y forma de la semilla
<i>C. pubescens</i>	presente		Púrpura	1(2-3)	Negra, rugosa
<i>C. cardenassi</i> *	presente		Púrpura (campanulada)	2-3	amarilla, lisa
<i>C. eximium</i> *	presente		Magenta a blanco con manchas amarillo-verdosas	2-3	Amarilla, lisa
<i>C.baccatum var.pendulum</i>	presente		Blanca con manchas amarillo-verdosas	1	Amarilla, lisa
<i>C.baccatum var.baccatum</i> *	presente		Blanca con manchas amarillo-verdosas	2-3	Amarilla, lisa
<i>C.annuum var.annuum</i>	presente	ausente	Blanca(grande)	1	Amarilla, lisa
<i>C.annum var.glabriusculum</i>	ausente	ausente	Blanca(pequeña)	1(2-3)	Amarilla, lisa
<i>C.chinese</i>	ausente	presente	Blanca opaca	2-3	Amarilla, lisa
<i>C.frutescens</i>	ausente	ausente	Blanca verdosa	2-3	Amarilla, lisa

* Pariente silvestre más cercano

Nota. Cuadro extraído de (Hernández *et al.*, 1999, p. 7).

Los capsaicinoides son los compuestos responsables de la pungencia de los frutos de pimiento y sus productos (Arabaci *et al.*, 2014). Los dos capsaicinoides más abundantes son la capsaicina (C) (8-metil-N-vanilil-trans-6-nonenamida) y la dihidrocapsaicina (DhC) (8-metil-N-vanililnonanamida) (Mueller *et al.*, 2010). Las estructuras químicas de estos compuestos se muestran en la Figura 2.

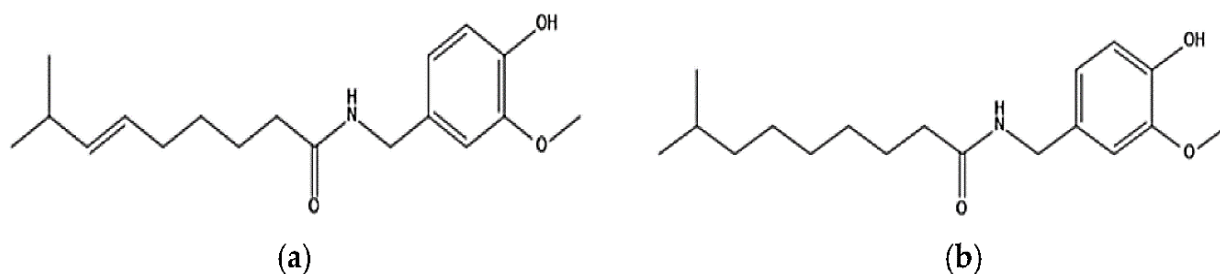


Figura 2. Estructura química de capsaicina (a) y dihidrocapsaicina (b). Extraído de Stan *et al.*, 2021.

Las cantidades de capsaicinoides que se encuentran en los frutos de los chiles pueden variar de acuerdo con la intensidad de la luz, la temperatura y los elementos minerales con los que se cultiva la planta; la edad de la fruta; y la posición del fruto en la planta (Marinçaş *et al.*, 2018). En frutos comerciales de Chile, el contenido de capsaicina es generalmente de 33 a 59%, mientras que el contenido de dihidrocapsaicina es generalmente de 30 a 51% y no dihidrocapsaicina de 7 a 15%, siendo el resto <5% de capsaicinoides (Muñoz *et al.*, 2020).

El contenido de capsaicinoides en los chiles es uno de los principales parámetros que determinan su calidad comercial. Las características estructurales de los capsaicinoides que son responsables de su sabor picante están asociadas con la presencia de un enlace amida que conecta un anillo de vainillilo y una cadena de acilo. Las actividades biológicas de estos compuestos y los frutos de los chiles también están asociadas con estas características estructurales (Stan *et al.*, 2021).

3.2.1 Contenido de capsaicinoides en chiltepín

La composición de los frutos de *C. annuum* incluyen proteína, carbohidratos, fibras dietéticas, vitamina C, calorías, materia seca y grasas que proveen de energía (Zaki *et al.*, 2013). Las plantas del género *Capsicum* sintetizan y acumulan capsaicinoides, alcaloides responsables del sabor picante, estos se encuentran en el tejido de la placenta que rodea a las semillas y su concentración está en función del genotipo de la planta, la madurez de la fruta y las condiciones en la que se lleve a cabo su cultivo (Zewdie y Bosland, 2000). De los capsaicinoides sintetizados naturalmente, existen principalmente cinco importantes que son: capsaicina, dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidrocapsaicina, de los cuales, tanto la capsaicina como la dihidrocapsaicina son reportados como los más abundantes y de elevada potencialidad (Laskaridou-Monnerville, 1999).

En el año de 2013 Gonzales Zamora *et al.*, evaluaron el contenido de capsaicina en 7 especies de chile obtenidas del norte de México: chiltepín, jalapeño, chile de árbol, serrano, puya, ancho y guajillo, lo anterior mediante HPLC. Los resultados destacan la doble concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina en el chiltepín en comparación con el chile de árbol, y alrededor de 1,5 veces más que en el jalapeño. En cuanto a los dos principales capsaicinoides, sus concentraciones rondan entre el 82 % y el 90 % (Cisneros-Pineda, *et al.*, 2007), siendo la variedad de chiltepín la que acumuló el nivel más alto de capsaicinoides totales con 31.84 mg/g peso seco (González-Zamora *et al.*, 2013).

3.3 Antecedentes de uso de capsaicinoides como bioplagicidas

La actividad insecticida de extractos de frutos de *Capsicum* ha sido evaluada en forma de polvo, tal es el caso de *C. annuum* L. frente a plagas de *Rhizopertha dominica* y *Sitophilus granaries* revelando que a mayores concentraciones su progenie fue completamente reducida (Ling *et al.*, 2012). Los efectos de la pulverización de los frutos y semillas de *C. annuum* y *C. frutescens* se estudiaron sobre *Callosobruchus maculatus* y *Sitophilus zeamais* siendo estos venenosos a concentraciones de 5.0 y 7.5 g en un tiempo de 48 y 96 h respectivamente (Ileke *et*

al., 2013). Li *et al.*, en el 2019 evaluaron la actividad insecticida de los capsaicinoides naturales (NC) así como ingredientes activos de pesticidas como imidacloprid, abamectina y piridaben, contra 14 insectos agrícolas tanto en el laboratorio como en el campo, el orden de actividad insecticida de capsaicinoides naturales es la siguiente: *Aphis gossypii* (de *Cucumis sativus*) > *Tetranychus viennensis* > *Tetranychus cinnabarinus* > *Aphis gossypii* (de *Gossypium* spp.) > *Aphis citricola* > *Lipaphis erysimi* > *Panonychus ulmi* > *Brevicoryne brassicae* > *Myzus persicae* > *Aphis craccivora* > *Plutella xylostella* > *Tetranychus trunca* > *Ectropis obliqua hypulina* > *Pieris rapae*. *Aphis gossypii* de *C. sativus* son sensibles a NC, pero *P. xylostella*, *E. obliqua hypulina*, *P. rapae* y *T. truncates* resultan insensibles. Los resultados consistentes encontrados en el laboratorio y los experimentos de campo efectuados por Claros *et al.*, (2019) sugieren fuertemente que los capsaicinoides y glucosinolatos pueden ser una alternativa ecológica a los pesticidas sintéticos.

Tales resultados revelan que las diluciones de capsaicinoides (a partir del 5% en concentración) y glucosinolatos (del 50% en concentración) pueden controlar eficazmente *Aphis cytisorum*. De igual forma, se destaca el estudio del efecto repelente en mosquitos de los extractos de *C. frutescens* y *A. aegypti* a partir de su empleo en polvo (Batiha *et al.*, 2020). Es probable que la combinación de varios extractos de *Capsicum* como *C. frutescens* y *C. papaya* generen productos altamente repelentes, aunque posiblemente la repelencia de la mezcla no sea resultado solo de un efecto aditivo (Ling *et al.*, 2012).

3.3.1 Compuestos extraídos del chile con actividad plaguicida

Mediante análisis químicos se han identificado que extractos de fruta de *C. annuum* presentan sustancias alcaloides, polifenoles, flavonoides, antocianinas, antraquinonas, taninos, triterpenos y saponinas que tiene potencial antimicrobiano (Hyldgaard *et al.*, 2012). La investigación realizada por Ekom y colaboradores en el 2021 determinó que el extracto de metanol de frutos de *C. annuum* inhibió las bombas de protones de ATPasas / H⁺ de las bacterias, lo que indica que eran objetivos potenciales del extracto de frutos de *C. annuum*. El inhibir estas bombas

es perjudicial para las bacterias ya que evita la expulsión de protones, lo que eventualmente provoca un ambiente menos ácido y en consecuencia se disminuye la supervivencia de las bacterias, por lo que es posible confirmar la actividad implícita bacteriostática y bactericida (Silva *et al.*, 2010).

El extracto de *C. annuum* inhibe la actividad enzimática de las deshidrogenasas de la cadena respiratoria, lo que sigue la unión de los componentes activos a la superficie celular para luego penetrar en los sitios diana. Paralelamente, se vislumbra la posibilidad de afecciones en la bicapa de fosfolípidos de la membrana citoplasmática y las enzimas unidas a la misma (Ekong *et al.*, 2021). Entre estos efectos también se incluye la inhibición de la fuerza motriz del protón, la inhibición de la oxidación del sustrato, la inhibición de los componentes de la cadena respiratoria y la transferencia de electrones. Por lo tanto, el mecanismo antimicrobiano de la capsaicina está relacionado con los cambios en la fluidez de la membrana celular debido a la rotura de las membranas celulares bacterianas (Al-Musawi *et al.*, 2020).

3.4 *Arabidopsis thaliana* como modelo *in vitro* de estudio

Arabidopsis thaliana pertenece a la familia de las crucíferas, crece naturalmente en regiones como Asia, Europa y África del Norte, y ha sido introducida en otras áreas como América del Norte y Australia; aunque no posee una importancia comercial aparente, se conoce su empleo como modelo en numerosas investigaciones debido a características como el poseer un genoma relativamente pequeño de 125Mb; el cual ha sido secuenciado, y se estima que contiene cerca de 27,000 genes que codifican para proteínas, además de más de 6000 que no codifican para un fenotipo (Martínez *et al.*, 2009).

Las semillas de *A. thaliana* comienzan a germinar cuando las condiciones se tornan favorables, dentro de este proceso se pueden diferenciar 4 estadios: el estadio I se caracteriza por la ruptura de la testa tras la imbibición, en éste se observa cómo emerge el endospermo (figura 3.A); en el estadio II, se visualiza la emergencia de la radícula del embrión (figura 3.B); el estadio III destaca la aparición de los pelos radiculares (figura 3.C) y, por último, el estadio IV destaca la proliferación y el

establecimiento de los cotiledones (figura 3.D) con el establecimiento de una nueva planta (Barceló *et al.*, 2001).

Ahora bien, el ciclo de vida de la semilla comprende dos etapas importantes: el desarrollo y germinación (Rock y Quatrano, 1995), las cuales conectan dos generaciones, la planta madre y la futura planta hija. El aprovechamiento de su corto ciclo de vida permite analizar los efectos que pueden tener diferentes compuestos orgánicos o sintéticos sobre cada una de las etapas, con lo cual se puede conocer en qué fase de su crecimiento se observa algún beneficio o afección.

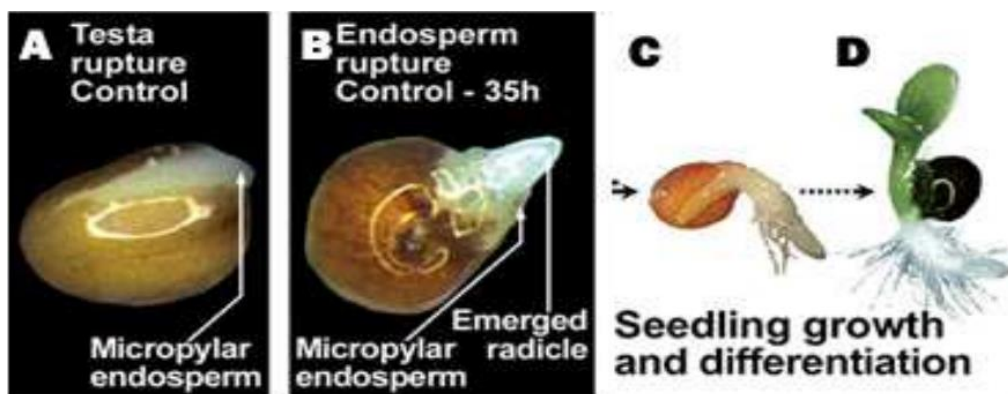


Figura 3. Ilustración de los 4 estadios que experimenta la semilla de *Arabidopsis thaliana* durante el proceso de germinación. A) Estadio I (12-24h). B) Estadio II (24-36h). C) Estadio III (36-48h). D) el estadio IV (48-72h) (Arc *et al.*, 2013).

3.4.1 Uso de *Arabidopsis thaliana* en pruebas con extractos orgánicos

Como se describió con anterioridad, el uso de *Arabidopsis thaliana* como especie modelo, ha ido en aumento debido a características tales como su pequeño tamaño y rápido crecimiento, con un ciclo vital bien conocido que comprende 6 semanas desde la germinación hasta la obtención de nuevas semillas maduras (Martínez, 2015). Los compuestos naturales han demostrado tener efectos sobre procesos fisiológicos vegetales, como la inhibición del proceso germinativo, la inhibición de la elongación de tallos y raíces; de igual forma, se reporta la promoción del oscurecimiento y engrosamiento de las semillas, la necrosis de los meristemos radiculares, la decoloración, la reducción del número de pelos radiculares, y el incremento de las raíces secundarias con la subsecuente reducción del peso seco e inhibición de la capacidad reproductiva (Bhadoria, 2011). Estos efectos, primarios

o secundarios, pueden deberse a la aplicación de compuestos orgánicos con actividad fitotóxica a nivel celular o molecular.

De lo anterior, se destacan los análisis morfológicos realizados con microscopios electrónicos que permitieron aseverar los efectos en el crecimiento, teniendo en cuenta la respuesta fenotípica frente a una compuesto de origen orgánico (Dayan *et al.*, 2000).

3.5 Importancia de la calabaza en la alimentación

La *Cucurbita* es uno de los géneros de cultivos de hortalizas de mayor importancia económica, y tres de sus especies se distribuyen ampliamente en el cultivo (Paris, H. S. 2001). México es considerado el centro de domesticación y diversificación de calabazas. Las especies que conforman al género *Cucurbita* son diploides y se encuentran compuestas por 20 taxones siendo solo cinco los domesticados (Eguiarte *et al.*, 2018), *Cucurbita pepo* ssp., resalta en importancia económica, de tal que, de las 27, 449, 481 toneladas de calabazas y calabacines producidas en todo el mundo en 2017, la mayoría pertenecen a *C. pepo*, pero también se incluyen otras especies de *Cucurbita* y su distribución mundial cultivada (Paris *et al.*, 2012).

Ahora bien, la calabaza (*Cucurbita L.*) es fuente de variedad de fitoquímicos con propiedades promotoras de la salud (Kulczyński y Gramza-Michałowska, 2019). Los frutos de calabacín se utilizan ampliamente para el consumo directo, así como para fines de procesamiento (Salehi *et al.*, 2019). Junto con el interés de los consumidores por las verduras frescas como el calabacín, también crece la demanda de productos de alta calidad (Rouphael *et al.*, 2019). Las características de calidad de los alimentos producidos orgánicamente, incluidos los atributos sensoriales y los valores que promueven la salud, son factores importantes que determinan el interés de los consumidores y, por lo tanto, desempeñan un papel clave en el desarrollo del sector orgánico (Kopczyńska *et al.*, 2021).

3.6 Cultivo de calabaza como modelo para probar los efectos de capsaicinoides

El género *Cucurbita L.*, pertenece a las calabazas como la mayoría de los otros miembros de las *Cucurbitácea*. Las cucúrbitas son enredaderas herbáceas, sensibles a las heladas, se caracterizan por crecer a ras de suelo, presentan zarcillos, grandes hojas palmeadas y frutos prominentes. La mayoría de las especies de *Cucurbita* son mesófitas, tienen sistemas de raíces fibrosas y son monoicas, con flores unisexuales grandes, de color amarillo anaranjado intenso, que producen néctar y que son alimentadas por las abejas (Paris, H. S. 2001).

Existe una gran variedad calabacitas, su cultivo posee un sinfín de ventajas, así como problemas y necesidades. Encontramos que a nivel nacional la calabaza ocupa el primer lugar en superficie sembrada, debido a su alto rendimiento en la cosecha y fácil manejo, sin embargo, requiere de una gran demanda de mano de obra, por lo tanto, se vuelve necesario el desarrollo de estrategias para cosechar con buena calidad y mejores producciones (Martínez, 2001).

Las plantas de calabacita se desarrollan rápidamente y sombrean a la mayoría de las malezas; sin embargo, algunas malezas pueden ser especialmente molestas. Las plagas que atacan a la calabacita son numerosas, la severidad de estas varía con el clima, la región, la variedad y la especie de la planta. Los áfidos constituyen un problema de gran importancia en el cultivo de calabacitas, ya que además de perjudicar las plantas directamente al alimentarse con la savia, son vectores de cierta cantidad de enfermedades virales que atacan a las cucurbitáceas. Entre las especies de áfidos más comunes que atacan a la calabacita se encuentran *Aphis fabae*, *A. gossypii* y *Macrosiphum euphorbiae*.

Paralelamente, los escarabajos son capaces de atacar a la calabacita en todos sus estadios, tal es el caso de la cochinilla rayada (*Acalymma trivittata*), cuya larva se alimenta de las raíces y las partes subterráneas del tallo, y la diabrotica (*Diabrotica undecimpunctata*), cuyo daño se limita generalmente a las plántulas jóvenes (Valadez, et al., 1998).

En consecuencia, se reconoce la necesidad de un continuo impulso en la innovación tecnológica que mejore las condiciones en el desarrollo y adaptación de variedades mejoradas en las regiones productoras de calabacita de nuestro país (Martínez, 2001).

3.7 *D. magna*: modelo ecotoxicológico en el estudio de plaguicidas

En ambientes acuáticos dulces, *D. magna* es componente clave de la red alimenticia, participa en la transferencia de energía de los productores primarios, como las algas a consumidores secundarios como peces. Este cladóceros es utilizado ampliamente en estudios de toxicología, hidrobiología y ecología acuática (Asaeda y Acharya, 2000), al ser un representante ideal del zooplancton (Dodson y Hanazato, 1995). Los ensayos con *D. magna* son una herramienta valiosa en evaluaciones ecotoxicológicas predictivas, debido a su fácil acceso y sensibilidad (Lee *et al.*, 2019). Otras bondades que se destacan en *D. magna* son su corto ciclo de vida, reproducción partenogenética (respuesta uniforme a un compuesto), alta producción de crías y facilidad de cultivo en laboratorio (Escobar-Chávez *et al.*, 2019). Al ser un bioindicador ambiental permite determinar concentraciones letales de agentes físicos y/o químicos que se incorporan al medio ambiente (Garcés, 2013, Bownik, 2019).

3.8 Modelo de Gompertz en predicciones ecotoxicológicas

La ecuación de Gompertz, es una función sigmoidea, creada por Benjamin Gompertz (1779-1865). Los primeros en proponer el modelo de Gompertz para el crecimiento biológico fue Wright en 1926 y Davidson en 1928 (Tjørve y Tjørve, 2017). Este modelo ha sido adaptado a datos de crecimiento de innumerables organismos como *D. magna* (Gonzaga Garita, 2021). La propuesta de este modelo se debe a que se asume que la tasa de crecimiento se incrementa uniformemente hasta alcanzar un máximo y después decrece; la correspondiente curva de crecimiento es una sigmoidea, con un punto de inflexión que corresponde a la tasa máxima de crecimiento con respecto a la edad y una asíntota (Casas *et al.*, 2010).

Estos parámetros variarían dependiendo del tipo de sustancia o mezcla de sustancias a las que se encuentra expuesta *D. magna*.

3.9 Ecoexergía como parámetro holístico

El término de exergía fue utilizado por vez primera en los trabajos de Carnot durante la primera parte del siglo XIX y éste fue asociado a la eficiencia que tenían las máquinas a vapor. Tal concepto hace referencia al potencial termodinámico, el cual es una medida de trabajo general y es tomada como una “diferencia” o contraste, en otras palabras, la exergía puede ser considerada como aquella parte de energía que será posible convertir en trabajo (Wall y Gong, 2001).

En un sistema biológico, la exergía comprende a la energía almacenada en la biomasa (la cual puede ser convertida en trabajo) y a la información biológica que diferencia a los organismos dentro de un ecosistema (Jørgensen y Fath, 2004). La exergía es el reflejo del grado de desarrollo y/o complejidad en un ecosistema; este crecimiento y desarrollo son el resultado de un sistema de componentes y configuraciones que buscan la maximización en el flujo de energía útil y la exergía que se encuentra almacenada (Silow y Mokry, 2010).

Por tanto, la exergía comprende las diferentes formas de almacenamiento de energía útil, como las reservas de materia orgánica viva y muerta, que se encuentran en la tierra (Tabla 2). Este almacenamiento genera un potencial de exergía de crucial importancia para la evolución de la vida en diversidad y complejidad (Wall & Gong, 2001). En una red trófica, la biomasa y la exergía fluyen entre los compartimentos de un ecosistema, soportando procesos de degradación y aprovechamiento en los diferentes niveles tróficos (Salas *et al.*, 2005).

De lo anterior, es de advertir que, la integridad y/o complejidad de un ecosistema, en cuanto a número de interacciones, está relacionado con su nivel de exergía contenida en los componentes de la biomasa y su ubicación entre los diferentes compartimentos vivos y muertos caracterizados por la información de la biodiversidad alfa, beta y gama de la red trófica (Doka *et al.*, 2002).

Tabla 2. Conceptos sobre ecoenergía utilizados en estudios ambientales

Concepto	Descripción
Ecoenergía	La energía disponible de todos los componentes bióticos vivos de un ecosistema en comparación con el estado no vivo, es decir, el detritus, en unidades de kilojulios, que puede utilizarse para medir el grado de organización termodinámica y la salud del sistema. ^a
Ecoenergía específica	Cantidad de ecoenergía por unidad de biomasa de una comunidad, en unidades de kilojulios/g, que puede utilizarse como factor de calidad que refleja el grado de desarrollo del sistema por su contenido de información genética. ^a
Energía	La cantidad de energía que fluye a través de un sistema por unidad de tiempo, es una medida del éxito de la captación de recursos y del grado de desarrollo de un sistema. ^a

Nota. ^a Lu *et al* (2015, p.3)

Análogamente, la teoría de la ecoenergía propone que la energía disponible o exergía de los componentes de un ecosistema no solo debe incluir a la energía libre de la materia, sino también aquella energía disponible de la información que se incorpora a los componentes y es utilizada para realizar procesos vitales (Liu *et al.*, 2015). Jørgensen y Mejer, en 1977, definieron a la ecoenergía como la energía disponible en unidades de kilojulios de todos los componentes bióticos de un ecosistema en comparación con su entorno y la calcularon como la multiplicación de la biomasa con la energía disponible, incluida la información genética por unidad de biomasa basada en la medida de información de los genes. Se ha propuesto el uso de la ecuación de Boltzmann para la energía libre de esta información, por lo tanto, la ecoenergía es el reflejo de las existencias actuales de energía disponible (Jørgensen, 2015).

3.10 Aplicación de ecoexergía en evaluaciones ambientales

La fuerza impulsora de todos los procesos es la energía la cual se encuentra involucrada en todos los procesos ecológicos y acompaña a las transformaciones en potenciales energéticos (Haddon, 1971). Por lo tanto, principios termodinámicos generales ayudan a comprender el complicado desarrollo estructural y funcional de los ecosistemas (Lu *et al.*, 2015). Su exploración ha sido un tema relevante tanto para la ecología como la biofísica lo cual ha dado como resultado en una variedad de orientadores (Fath *et al.*, 2001).

Estos orientadores de energía están basados en el principio de máxima potencia (PMP) propuesto por Lotka en 1922, y establece que los sistemas auto-organizados en especial los biológicos, capturan y utilizan la energía disponible para el desarrollo de redes que permitan maximizar los flujos de energía y además a través de ellos debe existir una compatibilidad con las limitantes del entorno, por lo tanto, los sistemas que maximicen su potencia energética serán aquellos que prevalecerán (Lu *et al.*, 2015). Investigaciones realizadas por Jørgensen y Mejer en 1977 y Odum en 1995, concluyeron que el principio de máxima potencia rige tanto el desarrollo funcional como estructural. Sin embargo, Odum *et al.*, (1996) amplió la definición de Lotka del PMP para no solo considerar los flujos de energía sino también los flujos de material e información de todos los tipos, convertidos objetivamente en flujos de energía, y al hacerlo, redefinió el PMP como el principio de máximo empoderamiento (PME).

Ahora bien, los avances más significativos en cuanto al uso de la exergía en sistemas ecológicos han sido en ecosistemas acuáticos, dentro de estos trabajos de campo uno de los más destacados hasta el momento es el desarrollado por Silow y Mokry, (2010), quienes presentan una amplia revisión del uso de la exergía en el modelamiento y el monitoreo ambiental en el lago Baikal. En cuanto a los ecosistemas terrestres su aplicación ha sido limitada, sin embargo, existen trabajos como el realizado por Lu *et al.*, (2015) donde se midieron las eficiencias en el desarrollo y mantenimiento estructural de una plantación de coníferas y *Acacia*

mangium en el sur de China mediante una aplicación integrada de métodos de eco-exergía y emergía.

En lo referente a la validación de modelos que emplean eco-exergía para conocer las características generales de los ecosistemas, resalta la combinación de componentes estructurales y funcionales de los mismos (Müller, 2005). La evaluación de la exergía almacenada en los ecosistemas es un acercamiento a ambos aspectos, de ahí su utilidad como indicador ecológico y para el modelamiento (Jørgensen y Fath, 2004). Tal versatilidad apremia estudios que relacionen la estructura de los ecosistemas con la capacidad de procesamiento de energía e información (Fonseca *et al.* 2000).

3.11 Redes neuronales de aprendizaje profundo

Las redes neuronales artificiales (RNA) son un sistema de procesamiento de información distribuida en paralelo, los cuales constan de elementos de procesamiento simples y adaptables, interconectados entre sí. Una RNA funciona como modelo estadístico que realiza una transformación de la entrada y salida mediante el ajuste de un conjunto de parámetros llamado “pesos” (Chavarría *et al.*, 2002).

Por otro lado, el aprendizaje profundo (DL por sus siglas en inglés) forma parte de los métodos de aprendizaje automático cuyo origen versa en las RNA, su principal ventaja frente a los métodos tradicionales de la misma índole radica en su elevado rendimiento al tratar grandes conjuntos de datos (Quirumbay *et al.*, 2022).

Así pues, la arquitectura base del aprendizaje profundo o redes neuronales profundas (DNN) son el perceptron multicapa (MPL o Multi Layer Perceptron) que emplea algoritmos de aprendizaje supervisado, la estructura de una MPL típica consiste en una capa de entrada en la cual se reciben los datos y una capa de salida para la toma de decisión. La predicción de la señal de entrada con una o más capas ocultas es considerada como el verdadero motor computacional de la red (Johnson *et al.*, 2017). La propuesta del uso de redes neuronales basadas en algoritmos de Deep Learning con enfoques MPL es reciente y abre muchas oportunidades de

investigación en diferentes áreas como lo es el modelado ambiental (Geetha y Thilagam, 2021).

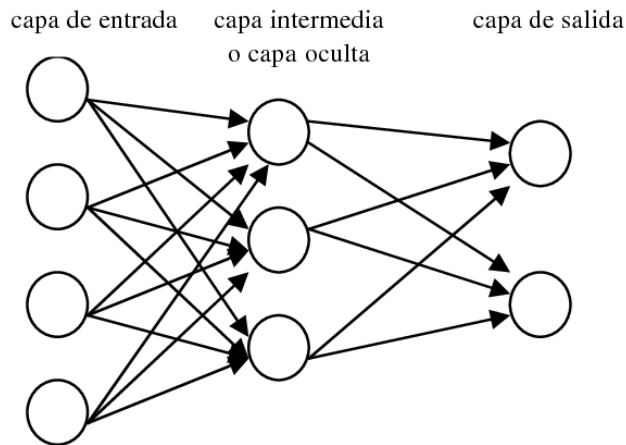


Figura 4. Ejemplo de una estructura de perceptrón multicapa (Argente *et al.*, 2022).

3.12 Aplicaciones de las redes neuronales

Los nuevos avances tecnológicos proporcionan potentes herramientas para estimar y predecir estadísticamente. Las redes neuronales son ejemplo de este tipo de herramientas cuya eficiente facultad predictiva permite tener en cuenta varios datos de entrada, se considera como un enfoque de modelado flexible para la toma de decisiones (Zhang *et al.*, 2020).

Ante tal precedente, el aprendizaje automático mediante el uso de redes neuronales se ha convertido en una herramienta indispensable cuyo uso destaca en el área de medicina para la clasificación precisa en casos de cáncer de piel y enfermedades de retina (Cheung *et al.*, 2019), recientemente sobresale en predicciones estadísticas en proyecciones sobre el calentamiento global, así mismo en sectores vulnerables como la agricultura donde evalúa el efecto del clima sobre el crecimiento y el rendimiento del cultivo a partir de modelos de simulación que permiten establecer relaciones (Horie *et al.*, 1995).

3.13 Seguridad y soberanía alimentaria en México

La producción de alimentos debe ser orientada al incremento con la finalidad de satisfacer las necesidades de una población en constante crecimiento y al mismo tiempo minimizar los impactos sobre el medio ambiente (Foley *et al.*, 2011). Por tanto, se debe desarrollar una visión más amplia que involucre la seguridad y soberanía alimentaria de conformidad con la afirmación del poder de las comunidades locales para gestionar democráticamente los recursos productivos del sistema alimentario como la tierra, el agua y las semillas, e incentivar un comercio bajo los propios términos de los agricultores (Wittman, 2011).

El concepto de soberanía alimentaria surge para contrarrestar los regímenes alimentarios de los corporativos y se le ha definido como “el derecho de las naciones y pueblos a controlar sus sistemas alimentarios, incluyendo sus propias culturas alimentarias, modelos de producción acordes con sus entornos, sus propias formas de intercambio y comercio” (Campesina, 2015). Sin embargo, este concepto debe reapropiarse en el ámbito campesino e infundirlo con un nuevo contenido valorado positivamente, reconsiderando que la agricultura local, tradicional, indígena, en pequeña o gran escala es capaz de sostener la demanda incrementada de productos agrícolas a la par que se conserva la biodiversidad y se apremia los servicios ecosistémicos críticos, manteniendo los medios de vida y la soberanía alimentaria (Ashe y Sonnino, 2013).

Ahora bien, el panorama en México revela que alrededor del 53.4% de los mexicanos vive en condiciones de pobreza, y casi el 44% pertenece a categorías de inseguridad alimentaria siendo a un mayor este porcentaje en aquellos pobladores rurales e indígenas (Bernstein, 2014). Paradójicamente, México es un país megadiverso, con alta diversidad cultural, biológica y humana, así como alta agrobiodiversidad y diversidad de sistemas agrícolas (Beuchelt, 2012); no obstante, el desafío que implica alcanzar la soberanía alimentaria requiere de la integración de sabiduría, conocimiento y prácticas en torno a la diversidad biocultural, diversidad humana, diversidad del paisaje, diversidad agrícola, diversidad forestal,

diversidad ganadera, diversidad de vida silvestre, diversidad de suelos, diversidad de agua, diversidad gastronómica y diversidad climática (Moreno *et al.*, 2016).

3.14 Marco agrícola de las comunidades rurales en México

En América Latina, el 52% de la población rural permanece en situación de pobreza, la reciente evidencia vincula al mantenimiento de la pobreza rural con la degradación ambiental como la pérdida de biodiversidad, erosión, deforestación e incluso también con la intensificación agrícola y la creciente integración de la agricultura dentro de los mercados mundiales (McMichael, 2007). Esta capacidad se ha evaluado en un marco alternativo de soberanía alimentaria para abordar el desafío de reducir la pobreza, mejorar la seguridad alimentaria y conservar la biodiversidad y otros recursos naturales en América Latina, de tal manera que este nuevo marco sugiere un replanteamiento del dilema en la pérdida de biodiversidad y el escenario de pobreza a la par que enfatiza en la conservación/uso compartido del suelo (Tscharntke *et al.*, 2012).

Es de advertir la importancia de la agricultura en este nuevo paradigma que la acoge en un marco de investigación y apoyo institucional en beneficio de los cultivos destinados al consumo regional o nacional, la mayor parte del tiempo, con el objetivo de mejorar los medios de vida de los pequeños agricultores y la seguridad alimentaria en general (McIntyre, 2009).

Así pues, se ha planteado el incremento en el rendimiento de los cultivos mediante diferentes técnicas y tecnologías lo cual admitirá la conservación de suelos en pos de la biodiversidad bajo el supuesto de un mayor acceso a los alimentos y una disminución de la pobreza (Chappell *et al.*, 2013).

3.15 Marco conceptual

3.15.1 Tipo de investigación

El conocimiento científico se construye a partir de un proceso bien organizado con la persecución de objetivos claros cuyos resultados serán comprobables y repetibles. Por tanto, de acuerdo con los objetivos planteados, la presente

investigación tiene cabida en cuatro dicotomías mutuamente excluyentes: respecto al tiempo de recolección de los datos, población de estudio, evolución del fenómeno e interferencia del investigador.

Así pues, esta investigación se clasifica como prospectiva debido al seguimiento en la planeación establecida. El corte de tiempo es longitudinal dado que la recolección de datos de *Cucurbita pepo* L. se efectúa atendiendo a las etapas de crecimiento y punto máximo del mismos, lo que permite analizar los efectos del extracto de *Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum*. El no tener un grupo de comparación permitirá solo la descripción de los datos obtenidos de los efectos del extracto de *Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum* sobre el cultivo de *Cucurbita pepo* L. Paralelamente, se destaca la investigación de tipo experimental dada la manipulación de las variables en la recolección de datos.

Por otro lado, Sampieri *et al.*, 2014 advierten cuatro tipos de investigación que son: exploratoria, descriptiva, correlacional y explicativa. Siendo la investigación de tipo exploratoria, explicativa y correlacional parte de la presente investigación. Es una investigación exploratoria por cuanto la bibliografía que atiende el uso del extracto *Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum* como un bioplaguicida para el control de insectos y fitopatógenos es relativamente nula. Es explicativa debido a la pretensión en la identificación del efecto o efectos del extracto de capsaicinoides sobre cultivos infectados, y sus beneficios en el ecosistema al mejorar su capacidad de aprovechamiento energético abordado con la teoría de ecoenergía. Se considera correlacional dado que los resultados experimentales sobre el efecto del extracto en los cultivos de calabaza infectados serán relacionados con los efectos ecotoxicológicos en un modelo sensible como *D. magna*.

3.15.2 Paradigma

En la formulación de un proyecto de investigación es indispensable el conocer y posicionarse en un paradigma determinado que eventualmente guía el proceso de investigación (Guba y Lincoln 1994). El paradigma engloba un sistema de creencias sobre la realidad, la visión del mundo y el lugar que el individuo ocupa en él (Flores, 2004). A lo largo del tiempo se han formulado múltiples enfoques sobre la ciencia,

de modo tal que, para la presente investigación, se adquiere dos de los más importantes: cuantitativista y cualitativista (Paitán *et al.*, 2014). El primer enfoque comprende el empirismo, el racionalismo, el positivismo, el neopositivismo, el enfoque de sistemas, el funcionalismo y el estructuralismo; en tanto que el segundo aborda el materialismo dialéctico e histórico, el realismo crítico, la teoría crítica de base marxista, y el relativismo de base fenomenológica (Flores, 2004).

De lo anterior se advierte que, la presente investigación, comprende los paradigmas positivista y constructivista. Es positivista debido a que los resultados de este estudio se validarán mediante modelos estadísticos, esto según los datos recolectados de su aplicación sobre la calabaza y su posible efecto como control de plagas, por tanto, tendrá un carácter racional y objetivista basado en lo observado y verificado. La postura ontológica estará condicionada a los resultados obtenidos del extracto de capsaicinoides y su modelación que permitirá determinar qué tan realistas y generalizables podrán ser tales resultados. Se destaca también el paradigma constructivista dado que el extracto de capsaicinoides obtenido del chiltepín se aplicará sobre un cultivo de calabaza bajo las condiciones ambientales de la Sierra Norte de Puebla, en específico del municipio de Venustiano Carranza. Se atisba, entonces, los cimientos en la recolección de información sobre las plagas más frecuentes, los plaguicidas químicos que se aplican y los costos que conlleva el cuidado de los cultivos para los agricultores rurales de la zona, lo anterior a partir de la aplicación de entrevistas.

La postura epistemológica se centrará en encontrar las condiciones adecuadas para la aplicación efectiva del extracto en la zona de la Sierra Norte de Puebla al considerar las características climáticas, de suelo, así como las sociales de la zona de la Sierra Norte de Puebla. La postura metodológica consistirá en la aplicación de métodos estadísticos para variables continuas.

La postura epistemológica se basa en una investigación de tipo prospectiva experimental en donde las variables estarán sujetas a la interpretación del observador utilizando el modelo biológico *D. magna* para evaluar los efectos ecotoxicológicos de plaguicidas orgánicos y sintéticos utilizados en el presente

estudio. En cuanto a la postura metodológica se aplicará un modelo matemático que permitirá tener una construcción de la realidad al utilizar el concepto de ecoexergía en las evaluaciones del aprovechamiento energético del crecimiento de *Cucurbita pepo* L. debido a que este concepto es un parámetro holístico que toma en cuenta las interacciones del ecosistema desde un enfoque dialéctico.

3.15.3 Enfoque epistémico

Los enfoques epistemológicos de la presente investigación son de tipo sistémico, en cuanto a que la aplicación de un modelo matemático permite interpretar el aprovechamiento de los recursos energéticos en el cultivo de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) mediante simulaciones en los patrones de crecimiento y desarrollo. Así también, es de tipo racionalista/materialista debido a que se da continuidad a trabajos previamente reportados en los que se atiende de manera exigua el efecto plaguicida de extractos de capsaicinoides en diferentes variedades de *Capsicum*. Análogamente, se reconoce un enfoque dialéctico/realista al utilizar el concepto de ecoexergía que admite un enfoque holístico de lo que ocurre en el ambiente tratado con extracto de capsaicinoides con fines agrícolas para control de plagas lo que facilita el reconocimiento de posibles beneficios en el uso de extractos naturales como plaguicidas y su realidad sociocultural y económica para los pequeños agricultores rurales de la Sierra Norte de Puebla.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

4.1 PREGUNTA CIENTÍFICA

¿Cuáles serán las características plaguicidas de un extracto de *Capsicum annum* L. var *Glabriusculum* sobre un cultivo infectado de *Cucurbita pepo* y su aprovechamiento energético, así como su impacto ecotoxicológico?

5. HIPÓTESIS

El extracto de *Capsicum annum* L. var *Glabriusculum* tendrá un efecto positivo en el cultivo infectado al mejorar su estado y aprovechamiento energético con un efecto

ecotoxicológico menor al compararlo con un plaguicida químico, el cual será mostrado mediante un modelo matemático.

6. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad plaguicida de un extracto de *Capsicum annum L. var. Glabriusculum* con respecto a uno comercial de amplio uso en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla, sobre un cultivo de *Cucurbita pepo L.*, mediante la modelación matemática de su aprovechamiento energético, así como de su ecotoxicidad en el modelo *D. magna*.

6.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Formular un plaguicida del extracto de *Capsicum annum L. var. Glabriusculum*.
- Evaluar el efecto plaguicida del extracto *Capsicum annum L. var. Glabriusculum* en calabaza infectada.
- Comprobar los efectos ecotoxicológicos en *D. magna* del extracto de *Capsicum annum L. var. Glabriusculum* de la sierra norte de Puebla con respecto a un plaguicida comercial mediante un modelo matemático.

7. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

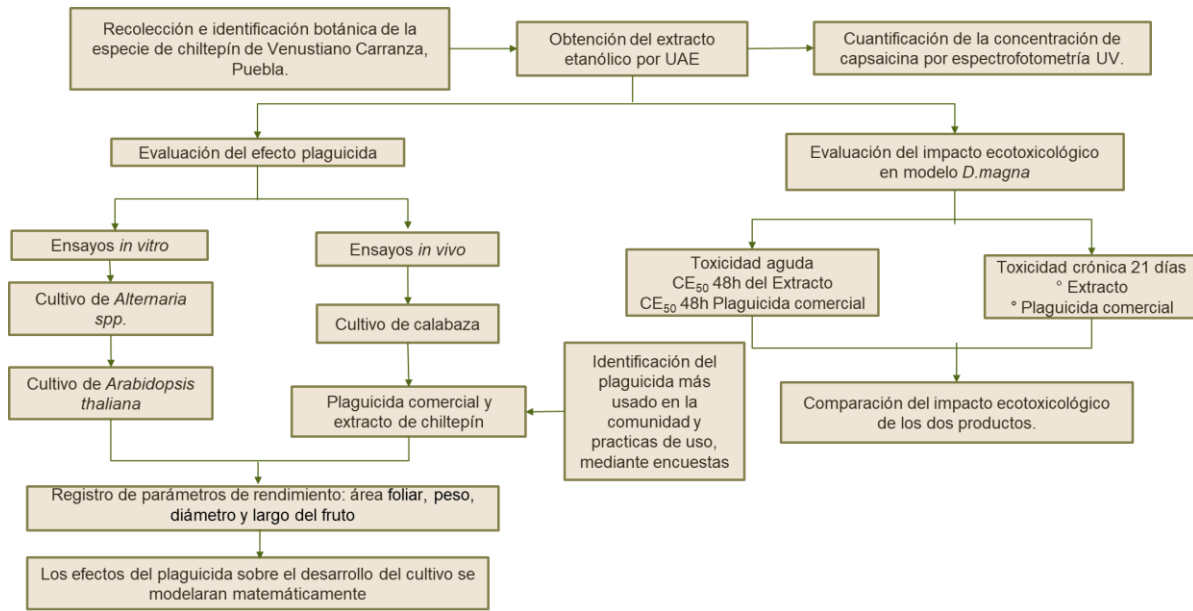


Figura 5. Diagrama de trabajo del tema de investigación

8. METODOLOGÍA

8.1 Recolección e identificación botánica de la especie de chiltepín

Las plantas se recolectaron por muestreo no probabilístico por conveniencia (Otzen y Manterola, 2017) en dos zonas del municipio de Venustiano Carranza, Puebla en un área de 5 m² en atención a las características físicas reportadas para *Capsicum annum l* (Hernández, 1999). El tamaño de la muestra se determinó a partir de la fórmula 1.

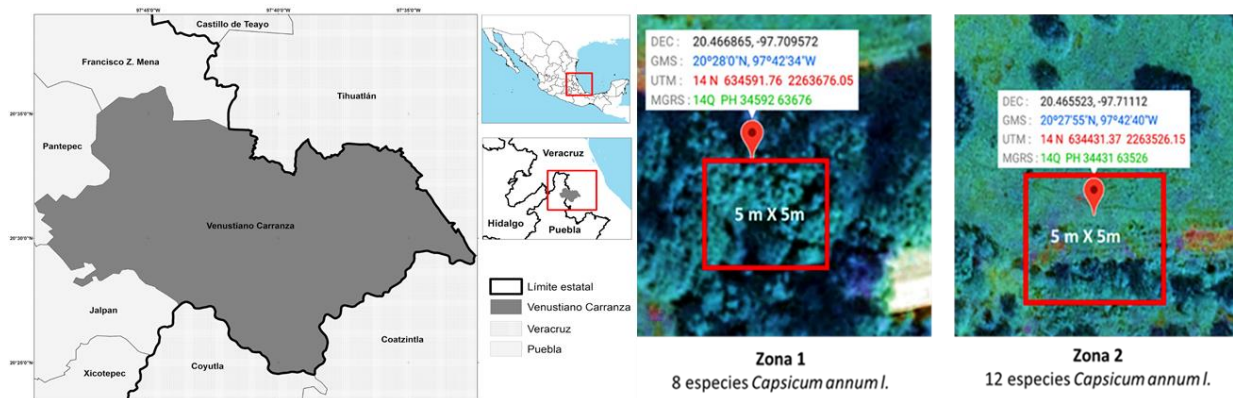


Figura 6. Zonas de recolección de chiltepín en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla con sus respectivas coordenadas geográficas.

$$n = \frac{N \cdot Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}{d^2 (N - 1) + Z_{\alpha}^2 \cdot p \cdot q}$$

Fórmula 1

Donde:

n = Tamaño de la muestra

N = Población de la especie a muestrear

Z = 1.962 (Nivel de confianza del 95%)

p = Proporción esperada del 50% o 0.5

q = 1 – p (en este caso 1 – 0.5 = 0.5)

d= Precisión del 3%

8.2 Obtención del extracto etanólico asistido por ultrasonido (UAE)

Los extractos etanólicos se obtuvieron de frutos maduros (Martínez *et al*, 2006) con coloración rojiza como indicativo de alto contenido de capsaicinoides (González-Zamora, *et al.*, 2013). Dicho estado se evaluó mediante espacio de color Lab a partir del empleo de los parámetros L (luminosidad), a (coordenadas rojo (+) /verde (-)), b (coordenadas amarillo (+) /azul (-)). Los valores 16.3 (L), +31.6 (a) y +25.9 (b) se usaron como referencia (Rochín *et al.*, 2013).



Figura 7. Frutos de chiltepín en estado de madurez. Muestras de chiltepín silvestre de la zona de Villa Lázaro Cárdenas, Puebla. Imagen propia.

Frutos maduros de chiltepín fueron recolectados y posteriormente secados en horno convencional a 60°C durante 4 h. A continuación, el material fue separado en dos muestras: una con el fruto y sus semillas (EECS) y una más con el fruto exceptuando las semillas (EESS). Ambas muestras fueron trituradas en licuadora a velocidad media hasta obtener un pulverizado fino al cual se le agregó etanol al 96%. Los compuestos de ambas muestras se extrajeron con baño ultrasónico por un periodo de 25 minutos a 55 °C y 40 kHz (Barbero *et al.*, 2008). Finalmente, el extracto

obtenido fue filtrado en dos ocasiones, la primera a fin de retirar sólidos de mayor tamaño y la segunda con el objetivo de eliminar virus o bacterias mediante membrana de 0.22 μm (Lu *et al.*, 2017).

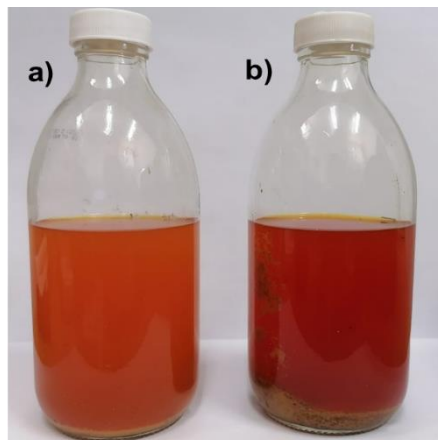


Figura 8. Extracto de chiltepín. a) Extracto etanólico con semilla (EECS), b) Extracto etanólico sin semilla (EESS). Obtención mediante baño ultrasónico, realizada a 55 °C y 40 kHz durante 25 minutos.

8.3 Cuantificación del contenido de capsaicina por espectrofotometría

El contenido de capsaicinoides en los extractos etanólicos de frutos maduros de chiltepín, EESS y EECS, se determinó por medio de curva estándar del compuesto puro 8-Methyl-N-vanillyl-trans-6-nonenamide (Sigma-Aldrich–12084) a concentraciones 25, 50, 75 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mediante espectroscopia de absorción UV a una longitud de onda de 266 nm (Thermo Electron corporation). Lo anterior a partir de la identificación del máximo de absorbancia a través de barrido espectral de los extractos en la región de 230 a 280 nm (González *et al.*, 2015, Davis *et al.*, 2007). Las absorbancias fueron procesadas por regresión lineal en el programa R (ver.4.2.1) con un R^2 ajustado = 0.9762.

8.4 Efecto fitotóxico de los extractos en semillas de *Arabidopsis thaliana* a largo plazo

Las semillas fueron expuestas a los extractos con diferentes concentraciones de capsaicina en el medio de cultivo MS (Phytotechnology adicionado con vitaminas) en placas de cultivo, donde se añadió 3.4, 6.8, 10.20, 13.60 y 17.00 mg/L de

capsaicina contenida en el EESS y 3.27, 6.54, 9.81, 13.8 y 16.35 mg/L para EECS en un volumen final de 20 mL. Un total 20 semillas fueron colocadas en placas, cuidando la existencia de 1 cm de separación entre cada una de ellas. Posteriormente, las placas se llevaron a estratificación en oscuridad a 4°C con monitoreo del proceso de germinación durante 4 días. Todos los tratamientos se llevaron cabo por triplicado y se incluyeron dos grupos control, uno en ausencia de los extractos y otro adicionado con etanol al 96% en la misma proporción al aplicado en los tratamientos EESS y EECS. Los resultados se analizaron por test Wilcoxon y suma de rangos de Friedman ($p < 0.05$).

8.5 Evaluación del efecto fitotóxico en plántulas de *Arabidopsis thaliana*

Plántulas de 7 días de edad fueron cultivadas en medio MS (Phytotechnology adicionado con vitaminas). La exposición se realizó a concentraciones de 27.20, 30.60 y 34.00 mg/L de capsaicina para EESS y de 26.17, 29.43 y 32.71 mg/L para EECS en un volumen final de 20 mL del medio de cultivo. De igual forma, se incluyeron dos grupos de referencia: uno en ausencia de ambos extractos y uno más adicionado con etanol al 96% en la misma proporción al aplicado en los tratamientos EESS y EECS. Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado e incubando a 25°C con monitoreo a las 72 y 120 h.

8.6 Evaluación del extracto como promotor de crecimiento de *Arabidopsis thaliana*

La exposición crónica se efectuó por un periodo de 20 días en concentraciones de 3.40 mg/L y 3.27 mg/L de capsaicina de EESS y EECS, respectivamente, en un volumen de 20 mL del medio de cultivo MS. Los grupos control constaron de medios de cultivo sin extractos etanólicos, así como únicamente etanol al 96% agregado en el mismo volumen que en los tratamientos EESS y EECS. Los efectos en los cambios morfológicos fueron evaluados en 4 cortes de tiempo: 1, 5, 15 y 20 días a partir de monitoreo fotográfico con microscopio digital (CoolingTech Microscope), previamente calibrado. Los resultados se analizaron mediante ANOVA de una vía con rango de Tukey como post hoc.

8.7 Prueba antifúngica de los extractos etanólicos en *Alternaria* spp.

Previo a la prueba de inhibición de crecimiento, se identificó el género del hongo utilizado (Figura 9) mediante morfología en placa y observación a microscopio sin tinción (Mühlhauser *et al.*, 2014). La prueba antifúngica se llevó a cabo en medios de cultivo APD al cual se le agrego concentraciones de 10.20, 13.60, 17.00, 20.40 y 23.80 mg/L de capsaicina en el extracto EESS y 9.81, 13.08, 16.35, 19.62 y 22.90 mg/L de EECS en un volumen final de 20 mL. Los cultivos control emplearon placas sin extractos y aquellas únicamente con etanol al 96% filtrado en la misma proporción al volumen aplicado en los tratamientos. En cada placa se inoculó un disco micelial de 3 mm de cultivo joven del hongo *Alternaria* spp. (Veloso *et al.*, 2014) y se llevó a incubación a 25°C en oscuridad. Los efectos del tratamiento se determinaron con base a diámetro de crecimiento (Vázquez-Fuentes *et al.*, 2021) y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición (Buitimea-Cantúa *et al.*, 2020).

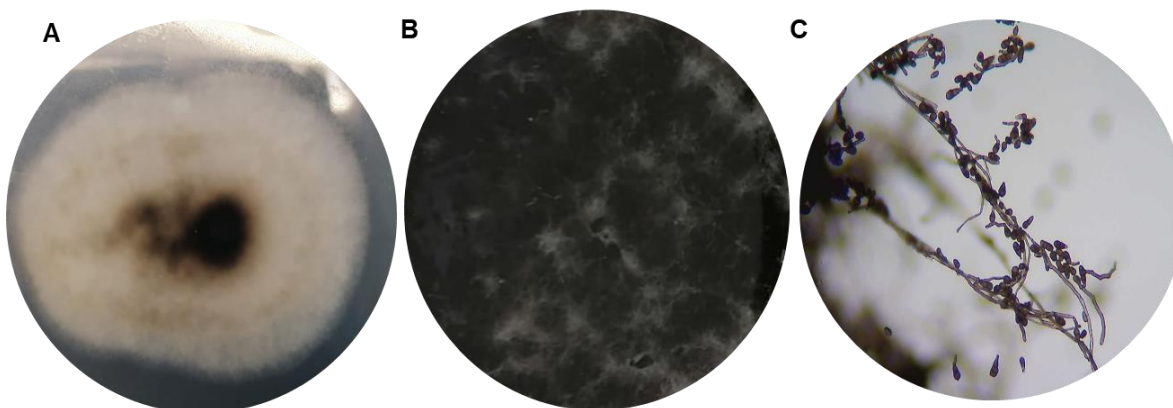


Figura 9. Análisis de morfología del hongo aislado *Alternaria* spp. A) Morfología en placa de *Alternaria* spp., a los 4 días de incubación, B) Morfología en placa de *Alternaria* spp. a los 8 día de incubación, C) Morfología en microscópico de *Alternaria* spp. a 40X sin tinción.

8.8 Cálculo de ecoenergía en el modelo in vitro *Arabidopsis thaliana*

La ecoenergía de plántulas de *Arabidopsis thaliana* para cada tratamiento se calculó a partir de la concentración del componente carbono en su biomasa seca. Previo a ello, se estableció el contenido de biomasa fresca mediante el uso de la ecuación 2, la cual considera las medidas del ancho y largo de la hoja, así como el largo del tallo en mm.

Fórmula 2

$$\begin{aligned} \text{Peso fresco} = & \text{Ancho de la hoja mm} (-6.5538) + \text{Largo de la hoja mm} (2.86677) \\ & + \text{Largo del tallo mm} (3.7163) - 13.4245 * \end{aligned}$$

* Modelo de regresión múltiple, $R^2=0,8297$, valor P: 0,0005496, referencia este trabajo.

La pérdida de agua se calculó restando el peso seco de la plántula con respecto a su peso fresco inicial. Plántulas de 7 días de edad fueron deshidratadas en un horno (BLUE M) a 105°C por 6 h (Cárdenas *et al.*, 2019) para su posterior pesaje en balanza analítica OHAUS (modelo Explorer). La ecuación de peso seco se obtuvo en el programa R (R^2 ajustado = 0.99 y $p < 0.05$). En la ecuación 3 se consideró como variable dependiente el peso seco y como variables dependientes, al peso fresco y porcentaje de pérdida de agua. La normalidad de los datos se analizó mediante Shapiro Wilk $p > 0.05$, independencia entre las variables $p > 0.05$ a partir de una matriz de correlación de Pearson y la homocedasticidad se comprobó por prueba Breusch-Godfrey Test cuyo $p < 0.05$.

Fórmula 3

$$\begin{aligned} \text{Peso seco} = & (\text{Peso fresco} * 0.053455905) \\ & + (\text{Porcentaje de pérdida de agua} * -0.000092885) + 0.008773355 \end{aligned}$$

La biomasa de carbono fue cuantificada atendiendo a la ecuación de peso seco de las plántulas y se utilizó el valor reportado por Küstner *et al.*, 2019 para determinar el contenido de carbono:

Fórmula 4

$$\text{Biomasa de carbono} = \text{Peso seco mg} * 0.45$$

De lo anterior, se procedió al cálculo de los coeficientes de ecoenergía, mediante el empleo de la siguiente fórmula (Jørgensen, 2005):

Fórmula 5

$$\text{Ecoenergía} = \sum \beta_i * C_i$$

Donde:

β_i = El factor de ponderación del organismo según la cantidad de pares de bases contenida en su genoma

C_i = Concentración del componente Carbono de la biomasa seca

El valor de β_i , como estimador de la información genética (Jorgensen, 2015 y Libralato *et al.*, 2006), resultó de 81.07 g/m² para el modelo de *Arabidopsis thaliana* y se obtuvo a partir de la fórmula 6:

Fórmula 6

$$\beta_i = \ln \left(20^{-\left(\frac{C_i}{2}\right)\left(\frac{bp}{3}\right)} \right) 1/Ex_{det}$$

Donde:

$$C_i = C$$

$$bp = 9.8 * 10^8$$

$$Ex_{det} = 7.43 * 10^5$$

8.9 Aplicación de tratamientos en cultivo de *Curcubita pepo* infectado

El material vegetativo utilizado fue Calabacita (*Cucurbita pepo* L., familia *Cucurbitácea*), cuya siembra se efectuó a 10 cm de profundidad con 2 o 3 semillas por surco separados por 1m. Los tratamientos se aplicaron en la etapa de floración; la dosis y frecuencia en el cultivo se describen en la tabla 3. Previo a cada tratamiento se tomaron las medidas iniciales de las plantas de *Cucurbita pepo*.

Tabla 3. Tratamientos utilizados en el cultivo *Cucurbita pepo* L. en Venustiano Carranza, Puebla.

Tratamiento	Dosis	Frecuencia de aplicación
Testigo	Sin aplicación	Ninguna
Extracto etanólico con semilla	50% EECS/Agua Potable	Cada 4 días/ 5 aspersiones
Extracto etanólico sin semilla	50% EECS/Agua Potable	Cada 4 días/ 5 aspersiones
Foley Rey®	0.75 L/ha	Cada 6 días/ 2 aspersiones
Foley Rey® - EECS*	Foley-EECS-Agua (50-25-25 %)	Cada 6 días/ 2 aspersiones

* La concentración de Foley Rey® en agua fue la mínima indicada en el envase

La superficie para cada tratamiento fue de 90 m² con separación de 2 m entre cada uno de ellos, lo anterior con el objetivo de albergar 3 réplicas por tratamiento considerando una configuración de 45 plantas distribuidas en 3 líneas de siembra con 15 plantas por línea. El manejo agronómico del cultivo comprendió la eliminación de maleza de forma manual, así como un riego cada ocho días.

8.9.1 Análisis de suelo utilizado en el estudio

El muestreo se realizó bajo lo descrito en la NOM-021-SEMARNAT-2000 y se contemplaron tres manejos de cultivo: Referencia, Tratado con extractos etanólicos de chiltepín y Plaguicida Foley Rey®. Cada muestra se constituyó de cinco submuestras simples recolectadas atendiendo al sistema tresbolillo (véase Figura 10) y distribuidas uniformemente.

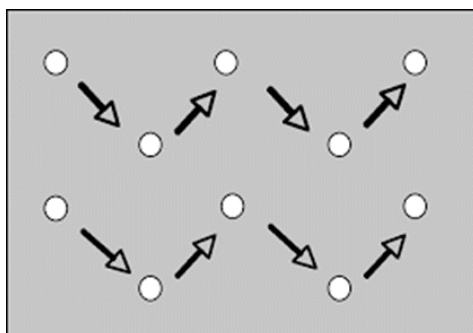


Figura 10. Muestreo en tresbolillo

La muestra se homogenizó correctamente y se utilizó el método del cuarteo para tener un peso final de 2 kg de suelo que se transfirió a una bolsa plástica resistente y limpia, con el cuidado de no contaminar ni mezclar muestras diferentes. Las bolsas se identificaron con marcador permanente y se llevaron al Laboratorio de Agodiagnósticos de Puebla (LAP) en un tiempo menor a 24 h, en cual se determinó: pH, Calcio, Magnesio, Potasio, Sodio, Cloro, Fosfatos, Nitratos, Sulfatos, Materia Orgánica.

8.10 Ecuaciones alométricas para estimar biomasa fresca en *Curcubita pepo*

La estimación de biomasa fresca en *Curcubita pepo L.* se calculó a partir de ecuaciones alométricas en atención a cuatro secciones importantes de la planta: hoja, tallo de la hoja, tallo de la base, flor y fruto (Tabla 4). Las ecuaciones aplicadas se crearon por muestreo destructivo, lo que permitió conocer la distribución de biomasa para la especie de calabaza en estudio.

Tabla 4. Modelos de regresión lineal para estimar la biomasa fresca de *Curcubita pepo L.*

Sección de la planta	Ecuación
Hoja	$\ln \text{Peso hoja} = -4.676 + (\text{Largo hoja} * \ln 1.0990) + (\text{Ancho hoja} * \ln 1.1708) ***$
Tallo de la hoja	$\ln \text{Peso tallo hoja} = -3.8299 + (\text{Largo tallo} * \ln 1.4320) + (\text{Circ tallo} * \ln 1.4257) ***$
Tallo de la base	$\ln \text{Peso tallo base} = +11.303 + (\text{Largo tallo} * \ln -3.638) + (\text{Circ tallo} * \ln 5.232) ***$
Flor	$\ln \text{Peso flor} = -3.821 + (\text{Largo flor} * \ln 0.8414) + (\text{Circ tallo} * \ln 1.5636) ***$
Fruto	$\ln \text{Peso fruto} = -5.5776 + (\text{Largo fruto} * \ln -0.1826) + (\text{Circ tallo} * \ln 1.6321) ***$

Código significancia: 0 (****) 0.001 (***) 0.01 (**) 0.05 (*) 0.1 (.)

Los datos de peso fresco (g) obtenidos por medio de las ecuaciones descritas en la tabla se transformaron a su escala original extrayendo posibles valores mínimos y máximos para cada sección muestreada de la planta; sin embargo, se advierte que en el presente estudio solo se utilizó el valor promedio. Los datos fueron calculados en el ID Rstudio.

8.11 Estimación de la biomasa de carbono en el modelo *in vivo Cucurbita pepo*

Muestras frescas de tejido de hoja, tallo, flor y fruto de *Cucurbita pepo L.* fueron secadas en un horno (BLUE M) a 75°C durante 72 h hasta alcanzar peso constante (Wang y Fath, 2017); la diferencia de peso se registró para determinar el porcentaje de pérdida de agua mediante regresión lineal en Rcommander para cada una de las secciones señaladas en el punto anterior.

Tabla 5. Datos de la regresión lineal del porcentaje de pérdida de agua en las muestras

Parte de la planta	Porcentaje perdida (%)	Significancia
Flor	93.67	P < 0.005
Hoja	89.46	P < 0.005
Tallo de la hoja	93.58	P < 0.005
Tallo de la base	90.65	P < 0.005
Fruto	89.99	P < 0.005

El carbono almacenado en *Cucurbita pepo L.* se estimó utilizando la fracción 0.45 de biomasa seca al no contar con información sobre su composición de carbono (Brown y Lugo, 1984; De Benítez *et al.*, 2002; IPCC, 1996).

Fórmula 7

$$\text{Peso seco} = \text{Peso fresco estimado} - (\% \text{ perdida de agua} * \text{Peso fresco estimado})$$

Fórmula 8

$$\text{Biomasa de carbono} = \text{Peso seco } g * 0.45$$

8.12 Cálculo de ecoexergía del cultivo *Cucurbita pepo L.* en los tratamientos

Establecido el cálculo de biomasa de carbono contenida en las plantas de calabaza tratadas, se procedió al cálculo de los coeficientes de la fórmula 5. El coeficiente β del modelo *in vivo Cucurbita pepo L.* es de 173.20 g/m², su genoma comprende 263 Mb; el coeficiente β es un estimador del potencial energético contenido en su información genética (Jorgensen, 1995 y Libralato *et al.*, 2006) para su cálculo se utilizó la fórmula 6. La ecoexergía expresada en equivalentes de energía de materia orgánica se obtuvo al multiplicar por el factor 18.7 kJ/g, lo que considera la energía química de las plantas de calabaza que puede ser reincorporada al ecosistema.

8.13 Encuesta para la identificación de plaguicidas y prácticas de uso en el municipio de Venustiano Carranza.

La población encuestada fue de 38 personas y se utilizó el método no probabilístico de bola de nieve, por lo que se instó la localización de informantes clave, lo que condujo hacia otros participantes y permitió establecer una relación de confianza con ellos (Crespo y Salamanca, 2007). El instrumento empleado consistió en un cuestionario de 19 preguntas de opción múltiple dividida en tres secciones (Martínez, 2014, Lugo-Morin *et al.*, 2018). La primera sección describió a la población encuestada con 4 preguntas. La segunda sección fue más amplia con 11, y atiende al tipo de plagas que afecta a los agricultores, la temporada de mayor aplicación de los plaguicidas, así como los compuestos activos y su peligrosidad. La tercera sección consto de 5 preguntas que facilitó el conocimiento de los precios de adquisición de los plaguicidas comerciales y qué esperan los agricultores de un plaguicida orgánico.

8.14 Prueba ecotoxicológica del plaguicida comercial en *D. magna*

Prueba aguda: El plaguicida comercial de uso común entre agricultores del municipio de Venustiano Carranza, Foley Rey®, fue aplicado en concentraciones de 0.6, 0.25 y 0.1 µg/L de su principal compuesto clorpirifos etil en un volumen final de 30 mL de agua dura reconstituida (NMX-AA-087-SCFI-2010), cada concentración consistió de tres replicas con 10 individuos por vaso. La mortandad se registró a las 48h estableciendo la CE₅₀ mediante una regresión logística por el método Probit.

Prueba crónica: El estudio crónico estuvo conformado por tres replicas a una concentración de 0.03786 µg/L de clorpirifos etil. Cada una de ellas se inició con 20 neonatos dispuestos en recipientes cilíndricos de un volumen de 120 mL con monitoreo manual por 20 días.

8.15 Prueba ecotoxicológica en *D. magna* de los extractos etanólicos de chiltepín

Prueba aguda: Se realizaron pruebas exploratorias de toxicidad aguda de los extractos etanólicos de chiltepín siguiendo las condiciones establecidas en la NMX-

AA-087-SCFI-2010. La prueba confirmatoria consistió en 10 neonatos expuestos durante 48 h a 5.96, 2.98 y 1.49 mg/L de capsaicina en el EESS y 5.15, 2.57 y 1.28 mg/L para EECS en un volumen final de 30 mL de agua dura reconstituida, cada concentración se ensayó por triplicado. La mortandad se registró a las 48h estableciendo la CE₅₀ mediante una regresión logística por el método Probit.

Prueba crónica: La prueba consistió en medios de cultivo con agua dura reconstituida y una población inicial de 20 neonatos, monitoreados durante 20 días con tres replicas técnicas. Se registró parámetros de historia de vida como natalidad, mortalidad y mudas. Las concentraciones utilizadas en la exposición crónica fue 10 veces menor a la CE₅₀ establecida para EESS y EECS.

8.16 Modelo matemático predictivo de la ecotoxicología crónica de EECS, EESS y Foley Rey® en *Daphnia magna*.

El modelo matemático se elaboró a partir de los datos recolectados en el monitoreo de 19 días de poblaciones de dafnias expuestas crónicamente a EECS, EESS y Foley Rey®. El seguimiento poblacional se realizó atendiendo las alteraciones al ciclo de vida de *D. magna*, calculando las probabilidades de supervivencia y transición. Las probabilidades obtenidas se adecuaron en forma matricial para describir el comportamiento poblacional en cada uno de los grupos. En la proyección de los individuos a través del tiempo se utilizó la ecuación de Gompertz (Ec.1) con una capacidad de 185 individuos para el sistema.

Ecuación 1

$$G(t_i) = K e^{-B} e^{-Ct}$$

Donde **G(t_i)** es el tamaño de la población en el día **t_i**, **K** es la capacidad de carga de sistema, **B** es el día de máximo crecimiento y **C** es la tasa máxima de crecimiento.

8.17 Modelado complejo ambiental de la ecoenergía en *Curcubita pepo L.*, por red neuronal

La red neuronal empleada en la predicción de ecoenergía en un cultivo de calabaza infectado se realizó en el ID-Rstudio (ver. 4.2.3) con las bibliotecas informáticas "neuralnet", "MASS", "ROCR", "gmodels", "caret", "lattice", "dplyr" y "keras". La arquitectura para este modelo constó de un perceptrón de 7 entradas que corresponden a dos indicadores creados y cinco parámetros determinados experimentalmente, en la arquitectura se incorporó 3 capas ocultas para mejorar el aprendizaje de neuronal, la salida es una neurona con el valor de ecoenergía de las plantas de calabaza tratadas. El algoritmo "retro-propagación" fue utilizado en la activación y ajuste de los parámetros con un error $p < 0.005$.

8.17.1 Evaluación del desempeño de la red neuronal multicapa

Se evaluó el aprendizaje y desempeño de los modelos de red neuronal entrenados mediante una matriz de confusión y un gráfico de precisión de entrenamiento y prueba contra el número de épocas de entrenamiento. Se utilizó el ID Rstudio (ver.4.2.3) con las paqueterías "neuralnet", "ggplot2" y "caret".

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Formulación de un plaguicida a partir de un extracto etanólico de *Capsicum annum L. var. Glabriusculum*

9.1.1 Obtención y caracterización de la especie *Capsicum annum L.* del municipio de Venustiano Carranza

En atención al primer objetivo se recolectaron de 2 zonas de la comunidad de Venustiano Carranza del estado de Puebla; especies silvestres de *Capsicum annum L.* Las plantas presentaron características de arbusto ramificado menor a dos metros altura, hojas ovaladas, tallos y peciolo delgados alados (Molina y Márquez, 2010), flores blancas y pequeñas de una a tres por nudo; así como frutos con una constricción en el cáliz y ausencia del dentado (Hernández *et al.*, 1999). La recolección de las plantas se realizó mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia (Otzen *et al.*, 2017). En la primera zona se identificaron a 8

especímenes de *Capsicum annum l.* y en la segunda a 12. El tamaño de la muestra se decidió con base a la fórmula 9, al establecer un nivel de confianza del 95%, determinando así la recolección de los especímenes silvestres identificados.

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot q}{d^2(N - 1) + Z^2 \cdot p \cdot q}$$

Fórmula 9

n = Tamaño de la muestra

N = Población de la especie a muestrear

Z = 1.962 (Con una seguridad del 95%)

p = Proporción esperada del 50% o 0.5

q = 1 – p (en este caso 1 – 0.5 = 0.5)

d= Precisión del 3%

Zona 1:

$$n = \frac{8 * 1.962^2 * 0.5 * 0.5}{0.03^2 * 7 + 1.962^2 * 0.5 * 0.5} = \frac{7.7}{0.968} = 7.9 \approx 8$$

Zona 2:

$$n = \frac{12 * 1.962^2 * 0.5 * 0.5}{0.03^2 * 11 + 1.962^2 * 0.5 * 0.5} = \frac{11.55}{0.972} = 11.88 \approx 12$$

La identificación botánica de *Capsicum annum L.* silvestre, fue con base a las características físicas registradas y a través de la aplicación de estadísticos de tipo univariado y multivariado; se descartó su pertenencia a otro género que no fuese el de interés para este estudio, dada la similitud morfológica que presentan.

Las características físicas registradas de tipo cuantitativo fueron el alto (cm), ancho y largo de la hoja (cm), pecíolo (mm), cáliz (mm), así como el largo y ancho del fruto (mm). En cuanto al análisis estadístico univariado, se utilizó un ANOVA de una vía empleando como datos de referencia los publicados para *Capsicum annum L.* de muestras provenientes de la Sierra Norte de Puebla (Ramírez, 2017) (Tabla 6).

Tabla 6. Datos recolectados por zona de los especímenes *Capsicum annum* L. del municipio Venustiano Carranza, Puebla.

Grupo	Alto (cm)	Ancho hoja (cm)	Largo hoja (cm)	Pecíolo (mm)	Cáliz (mm)	Largo fruto (mm)	Ancho fruto (mm)	Referencia
Control	55	2	5	12.5	1.5	9	6.5	Ramírez, 2017
Zona 1	47.75	1.33	3.09	15.38	1.73	11.25	7.88	En este estudio
Zona 2	44.25	2.25	4.98	16.42	1.88	11.00	8.25	En este estudio

ANOVA $p < 0.05$

El documentar características morfológicas de la especie silvestre *Capsicum annum* L. (Figura 11) fue de relevancia al realizar un análisis estadístico multivariado de componentes principales (ACP), el cual permitió concentrar las posibles variaciones de los datos originales en tres componentes o ejes. En cada componente principal, la contribución de las características físicas del chiltepín se expresó en valores y vectores propios.

Los datos originales se representaron en un espacio de dimensión inferior al original, así, el empleo de los indicadores que se señalan a continuación precisará la identificación de rasgos característicos en la especie. La primera componente se definió por el alto de la planta, el largo de la hoja, el ancho del fruto y el largo del fruto (Lázaro, 2017), la segunda y tercera componente se definieron por ancho de la hoja, cáliz y pecíolo análisis por componentes principales (Tabla 7). Este análisis mostró que 88.22 % de las características morfológicas son explicadas por las tres primeras componentes (Gálvez *et al.*, 2018, Gutiérrez *et al.*, 2020).

Tabla 7. Análisis de componentes principales de las características evaluadas en las plantas de *Capsicum annum* L.

Eje de los componentes principales							
	1	2	3	4	5	6	7
Autovalor	3.651	1.792	0.731	0.597	0.182	0.032	0.012
Proporción de la variación explicada (%)	52.16	25.60	10.45	8.52	2.60	0.46	0.18
Proporción de la variación acumulada (%)	52.16	77.77	88.22	96.75	99.35	99.81	100.00
Vectores propios							
Alto (cm)	0.462	0.311	0.176	0.057	0.183	0.581	0.532
Ancho hoja (cm)	0.206	-0.492	-0.676	-0.305	0.330	0.237	-0.007

Largo hoja (cm)	0.458	-0.228	-0.111	-0.003	-0.848	-0.006	0.072
Cáliz	0.168	-0.470	0.674	-0.524	0.129	-0.056	-0.020
Pecíolo	0.175	-0.520	0.164	0.791	0.207	-0.032	-0.024
Ancho fruto (mm)	0.492	0.200	-0.121	-0.042	0.254	-0.759	0.242
Largo fruto (mm)	0.482	0.277	0.054	0.016	0.108	0.154	-0.807

Es ampliamente señalado que las poblaciones de *C. annuum* silvestre tienen una elevada variación en sus características morfológicas (Hernández *et al.*, 1999), lo que indica que esta especie es un recurso genético valioso y su estudio mediante estadísticos multivariados como el ACP permiten mejorará su futuro aprovechamiento agrícola.



Figura 11. Especies de chiltepín silvestre analizadas. a) Muestra de espécimen en la zona 1 y b) Muestra del espécimen en la zona 2.

9.1.2 Obtención y cuantificación del contenido de capsaicina en los extractos etanólicos de chiltepín

El extracto etanólico se obtuvo de frutos en estado maduro, que presentaron una coloración roja alcanzada al día 40 posterior a la floración de la planta (Abellán *et al.*, 2018). El color se evaluó mediante el sistema CIELab que permiten cuantificar el color bajo los parámetros L^* (Luminosidad), a^* (variación de verde a rojo) y b^* (variación de azul a amarillo) comparándolo con respecto a valores de referencia (Caughey *et al.*, 2020; González-Zamora, *et al.*, 2013). Los resultados del análisis con base en los parámetros Lab, se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Valores del Espacio de color Lab del estado de madurez de frutos de chiltepín

Parámetro	Referencia [#]	Valor promedio de frutos de chiltepín	P-valor (T student)
Valor de L	40.00	42.05	0.159
Valor de a	47.00	56.90	0.0001*
Valor de b	34.8	35.76	0.3114

Valores reportados por Martínez *et al.*, 2016

* p-valor significativo menor a 0.05

Los frutos de chiltepín recolectados mostraron un ligero color oscuro (L) sin embargo, en cuanto al color rojo (a) este fue mayor con respecto a la referencia ($p < 0.05$), lo que indica la presencia de más carotenoides y podría estar relacionado con un incremento en la concentración de capsaicinoides (De la Cruz *et al.*, 2020, Delgado y Rist, 2016), el valor de *b* de los frutos de chiltepín indica que es ligeramente más amarillo sin embargo no es significativo ($p < 0.05$).

Los frutos analizados se procesaron para obtener dos variantes de extracto etanólicos: una con el fruto y sus semillas (EECS) y otro con el fruto exceptuando las semillas (EESS). Los extractos obtenidos se guardaron en envases de vidrio color ámbar protegidos contra luz y almacenado a -20°C (Frias y Merighi, 2016), para su posterior evaluación del contenido de capsaicinoides.

La cuantificación de capsaicina se evalúa en el rango de 230-280 nm (Davis *et al.*, 2007). A partir del barrido espectral se identificó la longitud de onda de máxima absorbancia correspondiente a los 266 nm (Figura 12), misma que se utilizó en la cuantificación de los extractos etanólicos de chiltepín EESS y EECS, el blanco empleado fue etanol al 96%.

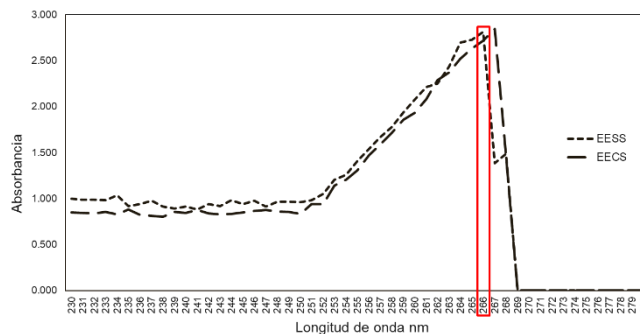


Figura 12. Espectros UV de los extractos con y sin semilla obtenidos de chiltepín (*Capsicum annum L. var glabriusculum*). Espectros de 230 a 280 nm.

Por tanto, la cuantificación del estándar capsaicina se estableció a los 266 nm y fue corroborada con un barrido del estándar dentro del mismo intervalo de 230 a 280 nm (Figura 12).

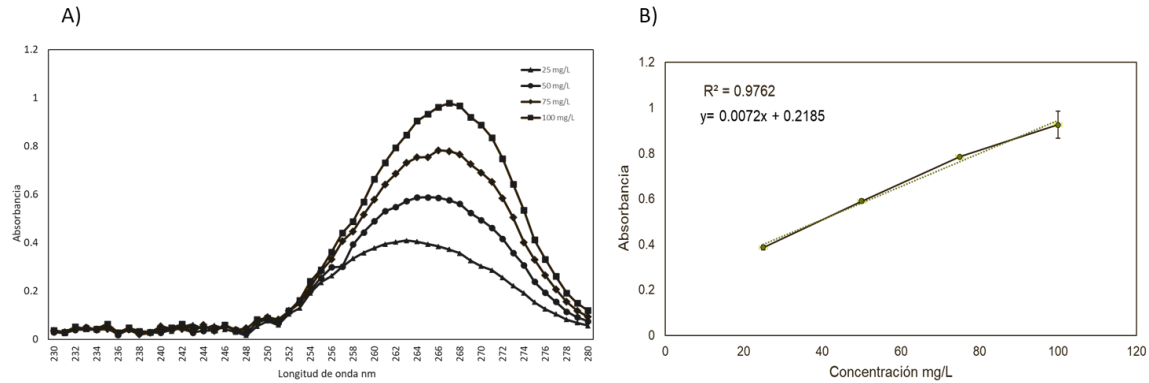


Figura 13. Espectros UV de diferentes concentraciones del estándar capsaicina. (A) Barrido espectral de capsaicina de 230 a 280 nm. (B). Curva de calibración de capsaicina.

La mayoría de los capsaicinoides presentan absorción en la región UV del espectro, entre 200 y 350 nm. De lo anterior, a partir de la ley de Beer-Lambert (González *et al.*, 2015), fue posible estimar la cantidad de capsaicina contenida en los extractos: 340.06 µg/mL para EESS y de 327.15 µg/mL para EECS. El rendimiento por peso seco de fruto de chiltepín se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Contenido de capsaicina por peso seco de frutos maduros de chiltepín

Muestra	mg/g peso seco	Referencia
Referencia	15.36 ± 1.67 ^b	González <i>et al.</i> , 2013
EESS	8.53 ± 0.05 ^a	Este estudio
EECS	7.92 ± 0.37 ^a	Este estudio

Diferencias $p < 0.05$ se muestran mediante letras

Se ha reportado un rendimiento de 15.36 mg de capsaicina/g de peso seco de chiltepín (Gonzales *et al.*, 2013), utilizado como agente de extracción acetonitrilo, sin embargo, este compuesto presenta una toxicidad superior en organismos acuáticos en comparación con etanol al 96%. Los extractos etanólicos obtenidos en este estudio se filtraron en dos ocasiones, la primera a fin de retirar sólidos de mayor tamaño y la segunda con el objetivo de eliminar virus o bacterias mediante membrana de 0.22 µm (Lu *et al.*, 2017). La concentración estimada fue 40% menor a la reportada para un extracto etanólico de *Capsicum annum* (González *et al.*, 2013). La disminución del rendimiento se atribuye a las filtraciones realizadas, al eliminar las partículas pulverizadas de chiltepín también se remueve parte de capsaicinoides presentes en la placenta del fruto (Vázquez *et al.*, 2007).

9.1.3 Efecto antifúngico del extracto de chiltepín sobre el fitopatógeno *Alternaria* spp.

En lo que respecta al primer objetivo se evaluó la propiedad antifúngica de los extractos EESS y EECS. Se empleó el hongo fitopatógeno *Alternaria* spp.; causante principal de necrosis en hojas y tallos en cultivos de calabaza (Jamiołkowska y Sawicki, 2011) y se monitoreó su crecimiento durante 7 días (Figura 14) lo cual permitió establecer las concentraciones a las cuales se inhibe el crecimiento del hongo.

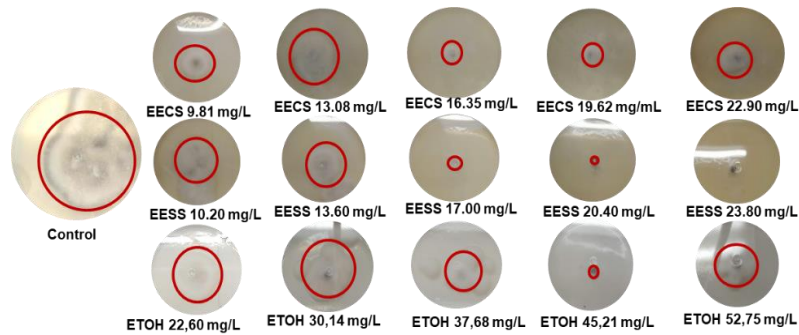


Figura 14. Crecimiento *Alternaria* spp. a las 168 h en los tratamientos con EECS, EESS y ETOH.

El crecimiento radial de *Alternaria* spp. se vio afectado severamente en medios de cultivos con extracto EESS con concentraciones de capsaicina entre 22.40 mg/L y 23.80 mg/L ($p < 0.05$), en cambio aquellos medios de cultivo con EECS en concentraciones inferiores a 22.90 mg/L de capsaicina se observó crecimiento (Figura 15).

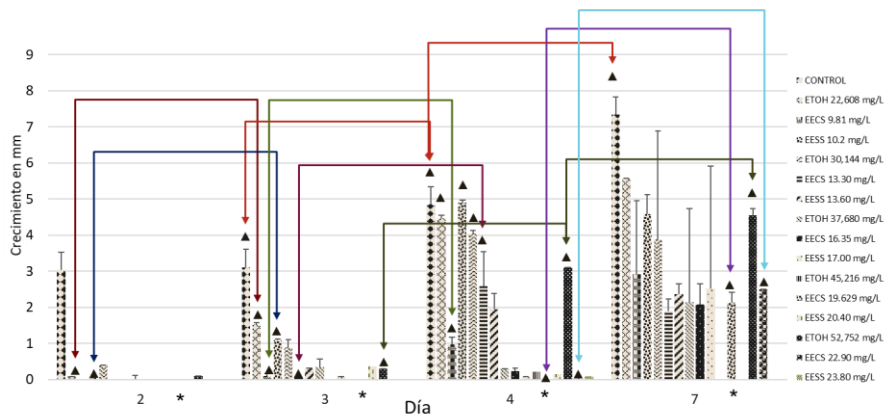


Figura 15. Evaluación de la inhibición del crecimiento de *Alternaria* spp., durante 7 días. Se muestra el efecto de los extractos EECS, EESS y ETOH sobre el crecimiento radial del hongo fitopatógeno. Diferencias $p < 0.05$ mediante el estadístico suma de rangos de Wilcoxon.

El efecto en el control del crecimiento del hongo *Alternaria* spp. mejoró en medios con EESS a una concentración de 23.80 mg/L de capsaicina en el cultivo. Esta concentración de capsaicina es comparada con el fungicida comercial Mancozeb® cuyo uso ha sido reportado en agricultores de la Sierra Norte de Puebla; su principio activo es el sulfato de cobre con un grado de toxicidad medio clasificado por la OMS (Martínez, 2014); estudios muestran que 1600 mg/L inhibe 100% el crecimiento de *Alternaria* spp. al día 8 (Gomez y Nuñez, 2019). Por lo tanto, para controlar el crecimiento del fitopatógeno *Alternaria* spp. con el extracto EESS se debe aplicar una concentración 67 veces menor a la aplicada con Mancozeb®, cabe señalar que este producto comercial evita cualquier crecimiento de hongos por lo que constituyen un riesgo en la aparición de biotipos fitopatógenos resistentes (Gaviria *et al.*, 2013).

Tabla 10. Efecto antifúngico de los extractos de chiltepín sobre el crecimiento de *Alternaria* spp.

Tratamiento	CE ₅₀ 48 H	CE ₅₀ 72 H	CE ₅₀ 96 H	CE ₅₀ 168 H
Extracto etanólico con semilla (EECS)	4.939 mg/L*	6.29 mg/L*	8.626 mg/mL**	14.89 mg/mL*
Extracto etanólico sin semilla (EESS)	7.72 mg/L***	8.68 mg/L**	12.68 mg/L***	14.18 mg/L***
Etanol (ETOH)	15,795 mg/L**	21,444 mg/L***	26,106 mg/L	36,847 mg/L***

Código de significancia: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1

El crecimiento radial de *Alternaria* spp., en los tratamientos EESS y EECS se evaluó en porcentaje de inhibición con respecto al cultivo control (Tabla 10), se calculó la concentración media efectiva (CE₅₀) a las 48, 72, 96 y 168 h. La inhibición del hongo a las 48h fue mejor con EECS al requerir una menor concentración en comparación con el empleo de EESS y ETOH, este resultado se observó a las 72 y 96 h, no así a las 168 h al requerir menor concentración de capsaicina presente en EESS, siendo para el caso de EECS un aumento de 2.02 mg/L en la concentración de capsaicina para impedir el crecimiento de *Alternaria* spp.

El efecto antifúngico atribuido a extractos de *Capsicum* se debe a la presencia de capsaicinoides encontrados mayoritariamente en tejido placentario de frutos en estado maduro, así también como alcaloides y tocoferoles compuestos con bioactividad (Gaviria *et al.*, 2013). Los agricultores utilizan Mancozeb® como agente de control químico aplicándolo cada 10 o 14 días, por lo que se plantea su uso integrado con extractos etanólicos de chiltepín en conjunto con programas de manejo que permitan disminuir la presencia de agroquímicos en frutos y suelo.

9.1.4 Efectos de extractos etanólicos de chiltepín en el modelo *in vitro* *Arabidopsis thaliana*

La actividad plaguicida de los extractos EESS y EECS se evaluó en *Arabidopsis thaliana*, como modelo *in vitro*, mediante en ensayos de sensibilidad. La primera prueba se realizó en semillas de *A. thaliana* en medios de cultivo con EESS y EECS, sus efectos se determinaron con base al porcentaje de germinación (Rojas *et al.*, 2014). Se consideraron 4 fases: ruptura de la testa, ruptura del endospermo, propulsión de la radícula y generación de la plántula alcanzada al 4 ° día de incubación a 25 ° C. Concentraciones de capsaicina en medios de cultivos se encontraron en un rango de 10.20 mg/L a 22.90 mg/L. El extracto EECS presentó un menor porcentaje de germinación para el día 3 y 4 con 13.08 y 16.35 mg/L de capsaicina en placa respectivamente, no así para el EESS a 10.20 mg/L en el cual se observó el mayor porcentaje de germinación de los extractos aplicados incluso en comparación con medios de cultivo que contenían solo etanol.

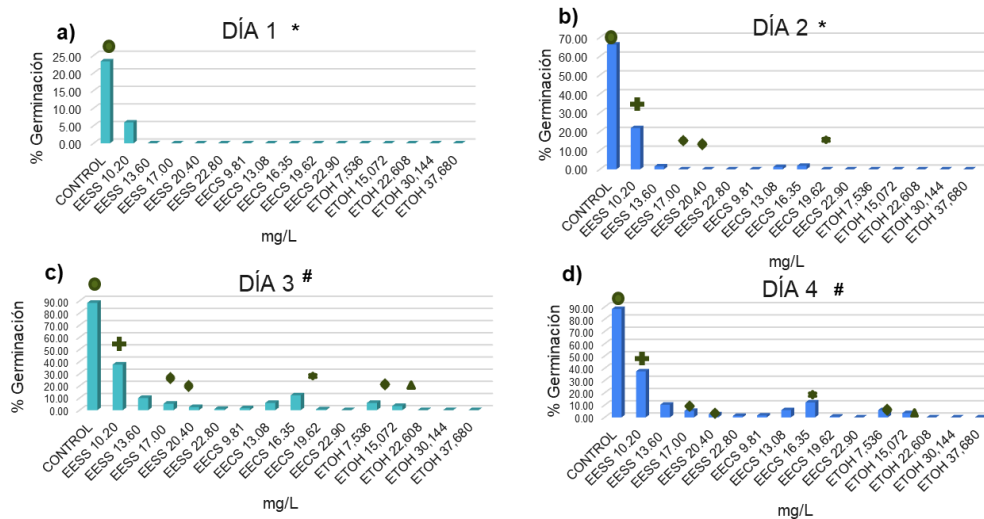


Figura 16. Porcentaje de germinación de *Arabidopsis thaliana* por día. Las diferencias entre días fueron confirmadas mediante una prueba suma de rangos de Friedman $p < 0.05$, diferencias entre grupos por días prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis con un $p < 0.05$.

La presencia de EECs y EESS afectó severamente la germinación de semillas de *A. thaliana* (Figura 16). El control de germinación de malezas mediante extractos etanólicos de chiltepín se vuelve óptimo al compararse con 2,4-diclorofenoxiacético (2,4 D) herbicida de amplio uso en Puebla (Cesáreo y César, 2019) que requiere de una dosis de 70 mg/L del compuesto activo para actuar como agente postemergencia en control de malezas (Fargašová, 1994), el extracto EESS y EECs requiere de 47.1 mg/L menos al aplicado con 2,4 D. La exposición a los extractos etanólicos de chiltepín en etapas tempranas de plantas maleza puede causar inhibición de las semillas o un retraso en su germinación en ausencia de los extractos, aunque el efecto en la germinación sea reversible se le considera un efecto fitotóxico (Sobrero, y Ronco, 2004).

Tabla 11. Efecto fitotóxico de los extractos etanólicos de chiltepín

Tratamiento	CE ₅₀ 72 h (3 DÍAS)	CE ₅₀ 120 h (5 DÍAS)
Extracto etanólico con semilla (EECS)	39.84 mg/L ****	28.37 mg/L ***
Extracto etanólico sin semilla (EESS)	35.78 mg/L ***	35.62 mg/L ***
Etol (ETOH)	6.2300e+07 mg/L	3.3038e+07 mg/L

Código de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1

La fitotoxicidad de los extractos EECS, EESS y ETOH se estudió en plántulas de *A. thaliana* con 7 días de edad. El efecto se evaluó a través de la pérdida de color en las hojas y se determinó la CE_{50} a las 72 y 120 h mediante modelo Probit de regresión logística (Tabla 11) en los tratamientos con EESS y EECS para descartar los efectos del solvente se utilizaron medios únicamente con ETOH y en ausencia de extractos.

El extracto EECS presentó efecto herbicida a las 72 h a una concentración de 39.84 mg/L de capsaicina en el medio de cultivo y de 35.78 mg/L para EESS, sin embargo, esta concentración se ve disminuida a las 120 h, es decir si la exposición al extracto EECS se prolonga por otras 48 h su efecto fitotóxico se ve mejorado al requerir de 28.79% menos que la concentración de capsaicina aplicada en EESS a las 72 h. En lo que respecta a ETOH se requiere de concentraciones superiores a 1×10^7 mg/L para causar la muerte del 50% de las plántulas. La disminución de la concentración efectiva a las 120 h con EECS se le puede atribuir a la presencia de saponinas en las semillas de chiltepín, compuestos que poseen un efecto herbicida (Osorio *et al.*, 2019).

El estudio a bajas concentraciones de capsaicina en sinergia con otros compuestos presentes en extractos de tipo etanólico de frutos de chiltepín no ha sido explorado en *Arabidopsis thaliana* por lo tanto fue de interés analizar los cambios fisiológicos presentados en plántulas de 7 días de edad expuestas durante 20 días a una concentración 10 veces menor a la CE_{50} determinada a las 120 h. El extracto EECS con una concentración de 3.275 mg/L de capsaicina mostró efecto benéfico en el largo del tallo de las plántulas al día 15 y 20 (Figura 17.a) siendo mejor que el grupo control, EESS y ETOH ($p < 0.05$). El ancho de las hojas (Figura 17.b) presento valores más altos en el tratamiento con EECS y ETOH ($p < 0.05$) al día 20; en cuanto al largo de la hoja de plántulas (Figura 17.c) en medio con EECS mejoró partir del día 5 ($p < 0.05$).

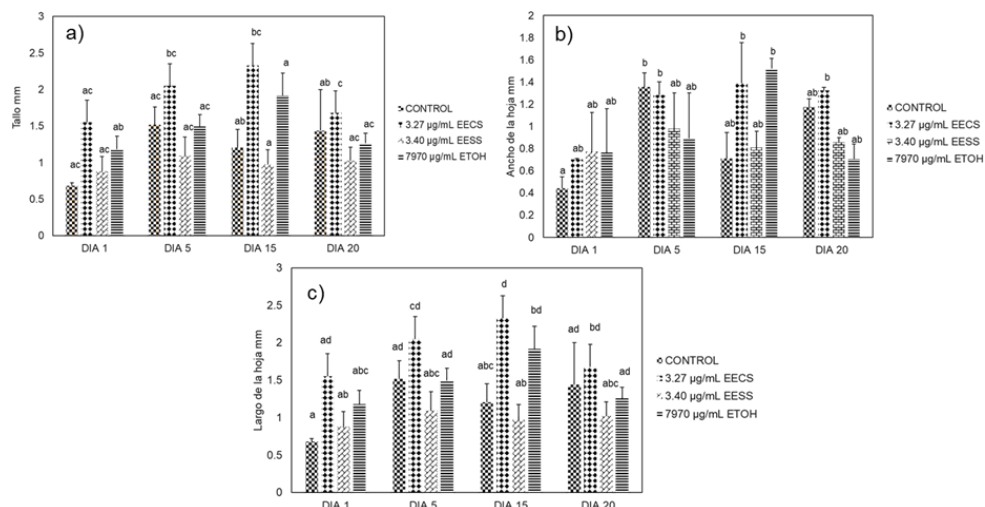


Figura 17. Cambios fisiológicos en plántulas de *Arabidopsis thaliana* de 7 días de edad expuestas a EECS, EESS y ETOH durante 20 días. (a) Registro del largo del tallo, (b) Registro del ancho de la hoja, (c) Registro del largo de la hoja. Diferencias $p < 0.05$ señaladas por letras.

Compuestos que se encuentran en EECS además de capsaicinoides son los terpenos con propiedades antioxidantes, así como de ácidos grasos, siendo algunos terpenos (López-Carreras, *et al.*, 2012; Matrínez y Galindo, 2014) los cuales podrían estar contribuyendo al mejor desarrollo de las plántulas.

9.1.5 Modelación matemática de los efectos de los extractos en el cultivo de *Arabidopsis thaliana*

Los efectos de los extractos etanólicos de chiltepín fueron modelados a través de la ecoexergía específica de *Arabidopsis thaliana*. La cuantificación de ecoexergía permite combinar componentes estructurales y funcionales de *A. thaliana*, del flujo de energía y su orientación. Para su cálculo se consideró la biomasa de carbono en las plántulas, el β_i y el valor del detritus como referencia de energía (Tabla 12).

Tabla 12. Información utilizada en la modelación matemática

Variable	Fórmula	Referencia
Peso seco (g)	$(\text{Peso fresco g} * 0.053455905) + (\text{Porcentaje de pérdida de agua} * -0.000092885) + 0.008773355$	Este estudio. Modelo regresión lineal, $R^2=0.999$, P-valor: 0.00707
Biomasa de carbono (g)	$\text{Peso seco g} * 0.45$	Küstner <i>et al.</i> , 2019
Coeficiente β_i <i>A. thaliana</i>	80.017 g/m²	Calculado con base a Libralato <i>et al.</i> , 2006; Jørgensen <i>et al.</i> , 1995; Álvarez <i>et al.</i> , 2015.

Valor de referencia detritus	18.7 kJ/g	Jørgensen <i>et al.</i> , 1995; Álvarez <i>et al.</i> , 2015.
------------------------------	-----------	------------------------------------------------------------------

La exposición aguda de los extractos EECS y EESS causó pérdida de coloración en las hojas de las plántulas, debido a la presencia de compuestos con potencial fitotóxico en altas concentraciones; su crecimiento se vio afectado negativamente, así como su aprovechamiento energético (Jorgensen, 1995, Libralato *et al.*, 2006). La reducción del aprovechamiento energético de las plántulas ante la presencia de capsaicina (Figura 18) es más notable con el extracto EECS a la concentración de 35.98 mg/L ($p < 0.05$), no así para los tratamientos con ETOH y EESS ($p < 0.05$), sin embargo, se observa una disminución de su ecoexergía específica con respecto al control.

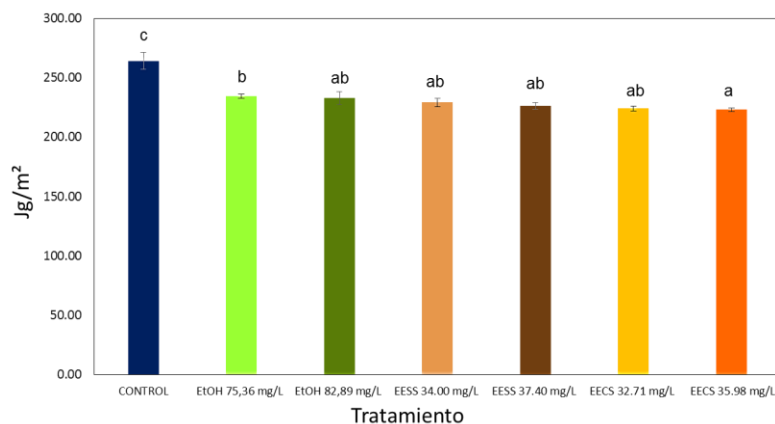


Figura 18. Ecoexergía específica de *Arabidopsis thaliana* expuesta a concentraciones de CE_{50} durante 72h. A partir del peso fresco de las plántulas expuestas a EESS, EECS y ETOH.

La pérdida energética se hizo más evidente al realizar una diferencia de los grupos sometidos a EESS, EECS y ETOH con respecto al promedio de ecoexergía registrado en el grupo control a las 72 h (Figura 19). En el tratamiento con EESS se observa una disminución de la ecoexergía al haber un incremento de capsaicina ($p < 0.05$) de la misma forma ocurrió para los medios con ETOH aplicado en la misma proporción del volumen utilizado en los extractos ($p < 0.05$), sin embargo, medios con EECS en un intervalo de capsaicina de 32.71 a 35.98 mg/L causan una muerte efectiva del 50% de las plántulas con una disminución de ecoexergía ($p < 0.05$) con

respecto a los tratamientos con ETOH y EESS, por lo que no se requiere de aplicar el extracto con una concentración mayor de capsaicina para observar fitotoxicidad.

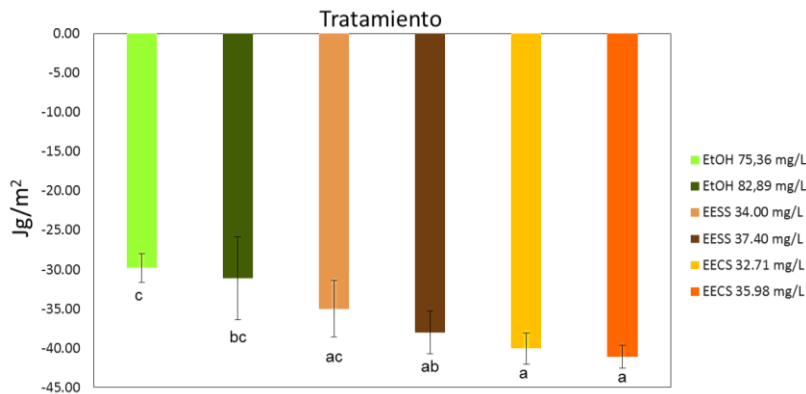


Figura 19. Diferencia de ecoenergía en la exposición aguda en *Arabidopsis thaliana*. Se realizó con base al peso registrado de las plántulas al final de la exposición con EESS, EECS y ETOH.

Además, el cálculo de ecoenergía específica se realizó en la exposición crónica con EESS, EECS y ETOH a bajas concentraciones de capsaicina durante 20 días con cuatro cortes de tiempo al día 5, 10, 15 y 20 (Figura 20).

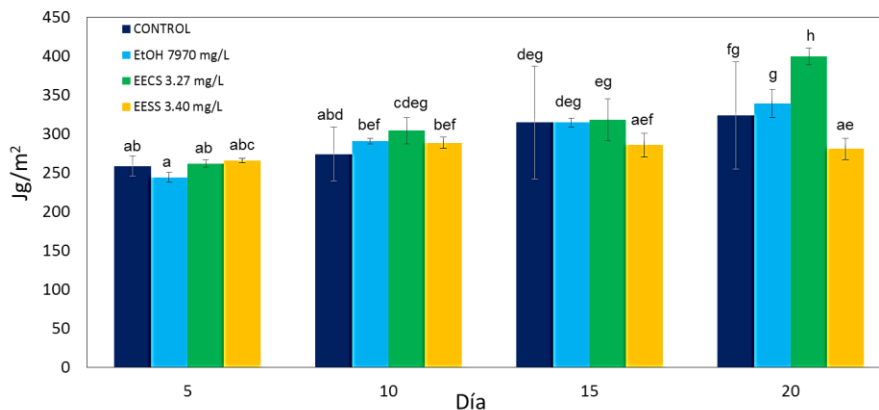


Figura 20. Ecoenergía específica de la exposición crónica con EESS, EECS y ETOH en modelo *Arabidopsis thaliana*.

La exposición a una dosis 10 veces menor a la determinada en la CE_{50} , para el caso de EECS mostró un incremento en la energía específica al día 5, 10 y 20 en las plántulas expuestas con una evolución positiva (Figura 21) no así para EESS el cual presento un ligero incremento al día 5 y 10 ($p < 0.05$) sin embargo, solo fue significativo en su decremento energético al día 15 y 20. Por otro lado exposición

con el solvente ETOH mostró una disminución en Jg/m^2 al día 5 y 15 con incrementos al día 10 y 20 lo que podría indicar adaptación de las plántulas durante lapsos de tiempo. Esto confirma el efecto positivo observado en el incremento del tamaño del tallo y hojas de las plántulas.

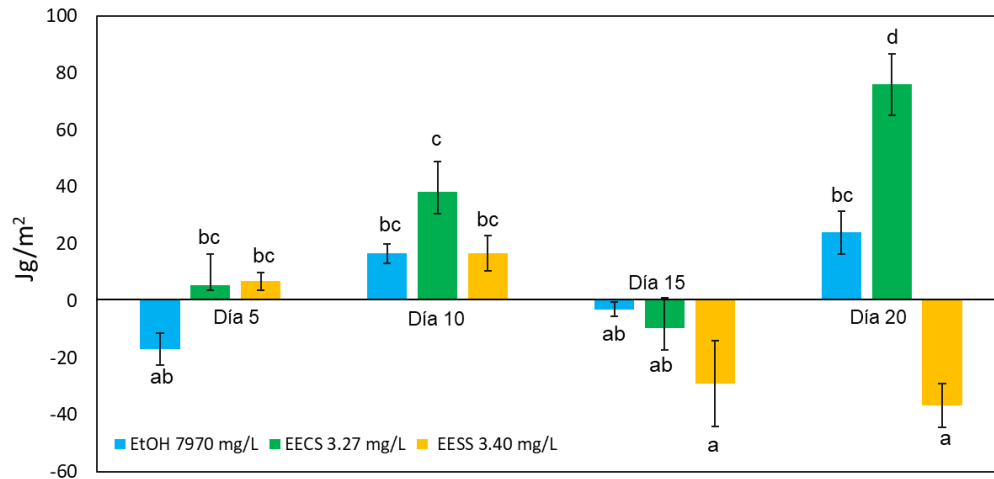


Figura 21. Diferencia de ecoenergía de la exposición crónica en el modelo *Arabidopsis thaliana* en los tratamientos EESS, EECS y ETOH. La diferencia de ecoenergía se hizo con base al promedio registrado de las plántulas al día 5, 10, 15 y 20 con respecto las expuestas a los extractos.

9.2 Encuesta aplicada a los agricultores del municipio de Venustiano Carranza, Puebla sobre el uso de plaguicidas

Para cumplir con el segundo objetivo fue importante conocer la frecuencia de uso de plaguicidas químicos por parte de los agricultores del municipio de Venustiano Carranza. El método de muestreo fue no probalístico por bola de nieve; se entrevistó a 38 agricultores con tierras de cultivos en el municipio de Venustiano Carranza. La edad promedio de los entrevistados fue 60.2 años y solo se tuvo registro de 6 feminas.

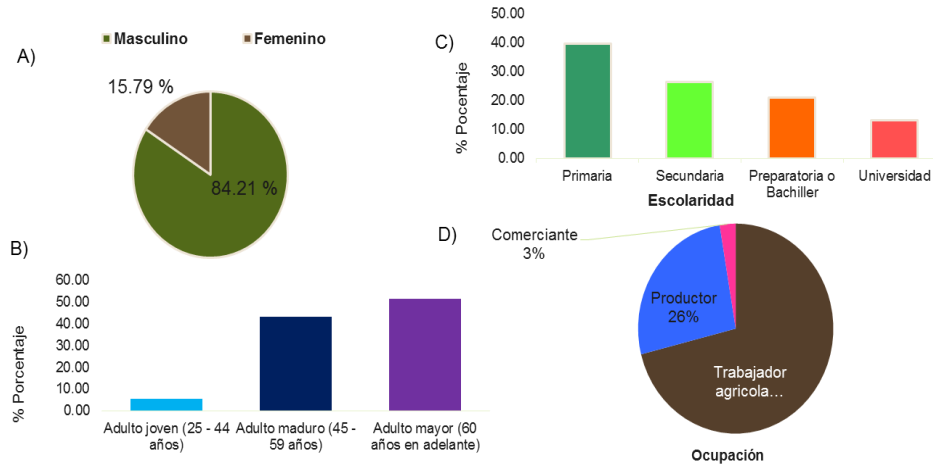


Figura 22. Descripción de la población encuestada con actividad agrícola en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla. A) Sexo de las personas encuestadas, B) Intervalos de edad de los encuestados, C) Grado de escolaridad de los encuestados y D) Actividad principal de los agricultores.

La estructura de la encuesta constó de tres secciones. La primera sección permitió obtener la descripción sociodemográfica. La segunda tuvo por objetivo conocer si los agricultores alguna vez emplearon plaguicidas químicos; el 82% señaló haber utilizado ocasionalmente plaguicidas y el 18% restante afirmó usarlos frecuentemente debido a su actividad agrícola de venta y autoconsumo.

Los plaguicidas son aplicados con mayor frecuencia en meses cálidos (abril-septiembre), solo el 18% de los agricultores mencionó utilizarlos durante todo el año. En lo que respecta al tipo de plaguicida; los fungicidas, herbicidas e insecticidas fueron los más señalados, en menor cantidad los fumigantes, bactericidas y rodenticidas (Figura 23). Las plagas insectiles que afectan de forma recurrente a los cultivos de los agricultores en el municipio de Venustiano Carranza son: el gusano cogollero, gusano medidor, lorito verde, gallina ciega, pulgón blanco y babosa (Figura 24); aunque solo se identificaron a insectos; se tiene antecedentes bibliográficos de hongos fitopatógenos (Martínez, 2014).

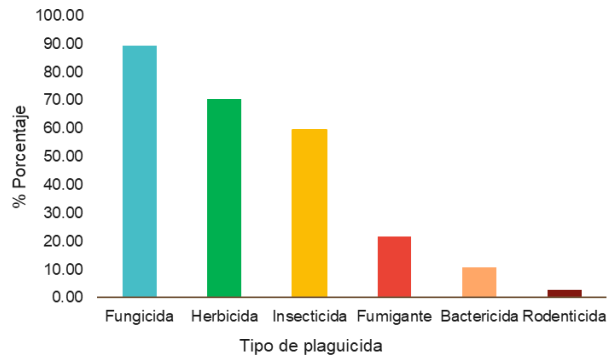


Figura 23. Plaguicidas más utilizados en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla. Resultados de la entrevista realiza en el año 2022.



Figura 24. Plagas registradas por los agricultores en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla. Resultados de la entrevista aplicada en 2022.

Los compuestos activos de los plaguicidas más empleados fueron: organofosforados, paraquat y glifosato; su clasificación de acuerdo con la OMS y con base a su toxicidad en ambientes acuáticos fue de categoría 1. Los organoclorados, carbamatos y piretroides; forman parte de la formulación de los plaguicidas, aunque en menor concentración. Los ingredientes activos no mencionados fueron las cetonas, triazinas y azoles (Figura 25).

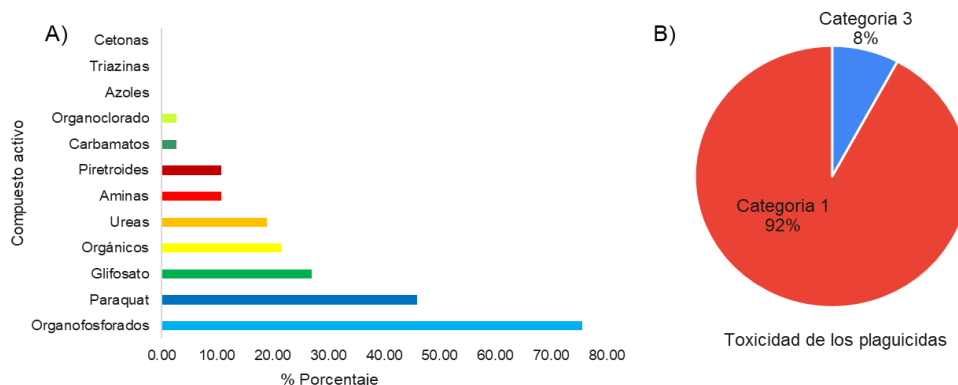


Figura 25. Compuestos activos de los plaguicidas y su toxicidad por categoría. A) Compuestos activos de los plaguicidas empleados en el municipio de Venustiano Carranza, B) Categoría a la cual corresponden los compuestos activos registrados de acuerdo con la OMS.

La cantidad utilizada de los plaguicidas, así como su frecuencia de aplicación (Figura 26.A) se basa en la experiencia del agricultor, otros consideran la información del reverso del envase del plaguicida adquirido y solo el 11% recibieron algún tipo de orientación por el vendedor. Estos resultados señalan la necesidad de capacitar a los agricultores mediante cursos o pláticas para el correcto uso y aplicación de plaguicidas, usando un lenguaje sencillo y práctico considerando a la falta de capacitación de los agricultores.

La frecuencia de aplicación de los plaguicidas con el fin de controlar o erradicar a una plaga se realiza por lo menos tres veces al mes, en los casos en que la plaga es severa la administración del agente químico se reduce a semanas (Figura 26.B).

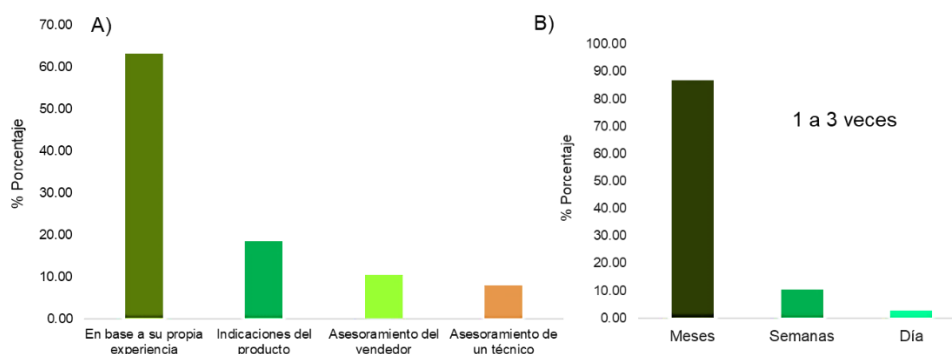


Figura 26. Toma de decisiones para la elección del plaguicida y la dosis a utilizar. A) Elección del plaguicida y la cantidad a utilizar de acuerdo con los entrevistados, B) Frecuencias con la cual se aplican los plaguicidas.

A los agricultores se les cuestionó acerca de la adquisición de un producto orgánico; su respuesta fue positiva, tal y como fue señalado por 95% de ellos y el 5% restante se planteó la compra del producto considerando su precio de venta. Las características que busca el agricultor en un plaguicida orgánico son: control de plagas y enfermedades, disminución de la mano de obra e incremento en la producción del cultivo (Figura 27.A).

Las plagas de interés para los agricultores de la zona a controlar por el plaguicida orgánico son: parásitos o gusanos, malezas, hongos, insectos, ácaros y algunas bacterias (Figura 27.B).

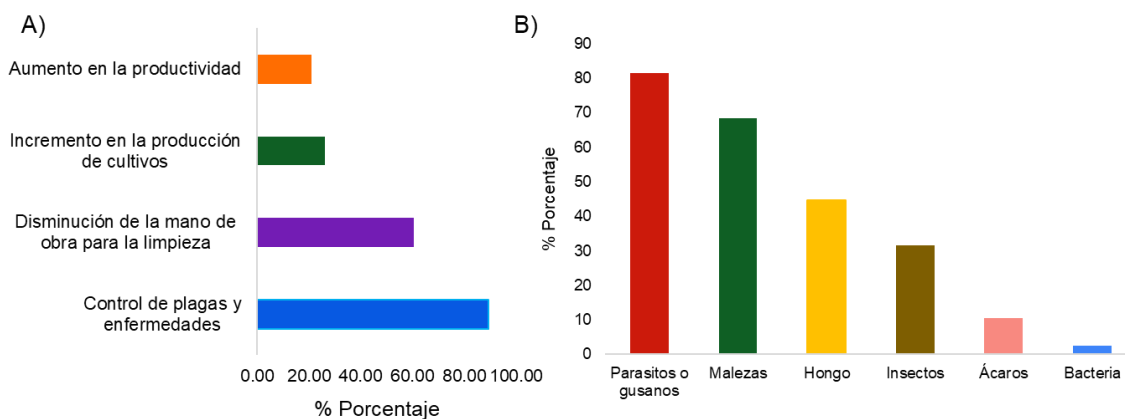


Figura 27. Propiedades que debe tener un plaguicida orgánico de acuerdo con los entrevistados. A) Características que busca el agricultor, B) Tipo de plagas a controlar.

9.3 Efectos de los extractos etanólicos de *Capsicum annum L. var. Glabriusculum* y un plaguicida de uso común sobre cultivo de calabaza infectada

La calabaza (*Cucurbita pepo L.*) es considerada como una planta comercialmente rentable, su demanda es grande a nivel nacional e internacional. Entre los principales estados productores en México se encuentra Puebla (De La Rocha *et al.*, 2020). Con base a esta información, el estudio de los efectos plaguicidas de los

extractos etanólicos de chiltepín fue de relevancia, sobre todo al ser comparado con un plaguicida comercial de uso común en el municipio de Venustiano Carranza.

La evaluación de los efectos plaguicidas se realizó en un cultivo de calabaza infectado. Los grupos experimentales consistieron en plantas con EECS, EESS, FoleyRey®, FoleyRey®/EECS, FoleyRey®/EESS y un control sin infecciones.

Previo a su aplicación, se identificaron las principales enfermedades presentes en el cultivo (Figura 28), entre las que destaca la presencia de fitopatógenos, bacterias e insectos como la hormiga y catarinas (Martínez *et al.*, 2012).



Figura 28. Enfermedades identificadas en el cultivo de calabaza previo al tratamiento.

Así también se realizó un muestreo del suelo para cada manejo agroquímico, tres muestras fueron recolectadas atendiendo al tipo de tratamiento: Extractos etanólicos de chiltepín, Foley rey ® y sin tratamiento. Las muestras se analizaron según la NOM-021-SEMARNAT-2000 en el Laboratorio de Agrobiagnóstico de Puebla.

Para los tres casos el tipo de suelo se estableció como franco arcilloso que resulta ideal en el cultivo de calabaza; el valor de pH fue neutro, descartando un efecto negativo demasiado alcalino o ácido; el porcentaje de materia orgánica de 6.96 – 9.58%, aseguró un contenido adecuado de nutrientes para las plantas, es importante señalar que no se realizó fertilización previa a la toma de muestras por lo que este último dato debe su característica únicamente a restos de cultivo anterior a la siembra de calabaza.

Los datos obtenidos del estudio fisicoquímico se integraron en la modelación predictiva por red neuronal para el cálculo de ecoexergía de los cultivos de calabaza tratados.

El monitoreo de los efectos de EECS, EESS, FoleyRey®, FoleyRey®/EECS, FoleyRey®/EESS se realizó durante 20 días con cinco cortes de tiempo al día 1, 4, 8, 12 y 20 (Figura 29) a la par se efectuó un registro del tamaño de la hoja, el tallo, así como la base sobre la cual crecen, el tamaño de la flor y fruto.

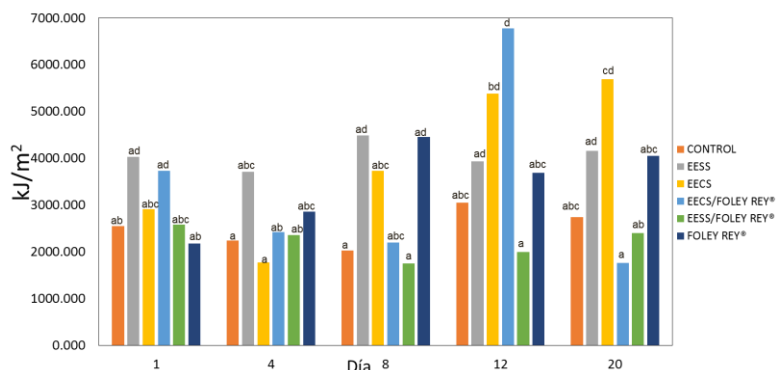


Figura 29. Ecoexergía calculada en cultivo de calabaza infectada en los tratamientos al día 1, 4, 8, 12 y 20. Diferencias significativas señaladas por letras ANOVA $p < 0.005$.

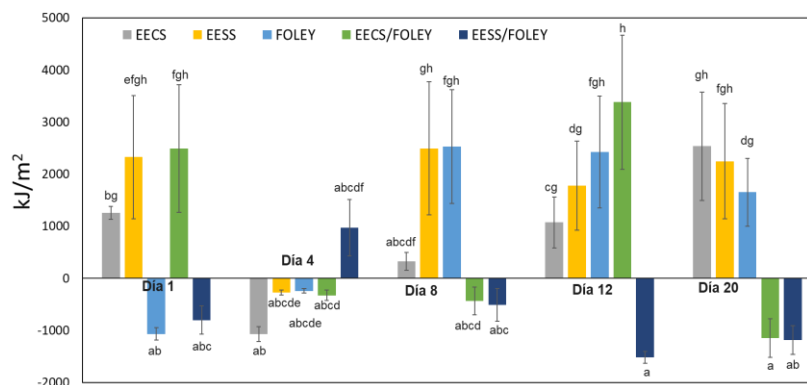


Figura 30. Diferencia de ecoexergía en los cultivos de calabaza infectada al día 1, 4, 8, 12 y 20. Diferencias significativas señaladas por letras ANOVA $p < 0.005$.

Se registraron valores superiores de ecoexergía previo al inicio de la aplicación de los tratamientos en los cultivos designados ($p < 0.005$). La primera aplicación se efectuó al cuarto día; sin embargo, derivado de la presencia de insectos y patógenos, se observó una reducción de ecoexergía en todos los cultivos (Figura 30). En el octavo día, 4 días posteriores a la primera aplicación, se registró una

recuperación energética en los grupos EESS, EECS y FoleyRey® ($p < 0.005$), estos efectos benéficos para el caso de los extractos etanólicos de chiltepín se atribuyen a la presencia de alcaloides, polifenoles, flavonoides, antocianinas, antroquinonas, taninos, triterpenos y saponinas (SE Ekom *et al.*, 2021).

Continuando con el monitoreo, el día 12 se caracterizó por la notoriedad de efectos positivos en los grupos EECS y EECS/ FoleyRey® ($p < 0.005$), tal que se generó un incremento de ecoenergía a consecuencia de aumento en la floración en comparación con los otros tratamientos. El proceso de floración es importante para los agricultores debido a que se puede disponer de la comercialización de dicho órgano de la planta o esperar a que éste sea polinizado con la consecuente aparición de frutos.

Finalmente, se destaca la prevalencia del efecto positivo de EECS al día 20, lo que denota un mejor aprovechamiento energético en contraste a los otros grupos para el mismo día, lo que resalta la presencia de compuestos fenólicos y capsaicinoides en el fruto completo de chiles, mismos que registran actividad antifúngica y bactericida (Anaya *et al.*, 2021), también se encuentran saponinas y terpenos que benefician la polinización y refuerzan la relación ecológica (Pavoni *et al.*, 2019).

Se obtuvo evidencia fotográfica de los efectos ocasionados por los tratamientos sobre los cultivos infectados. Es posible apreciar una mayor floración y densidad foliar para el tratamiento con EECS, así como frutos de mayor tamaño y peso (Figura 31).

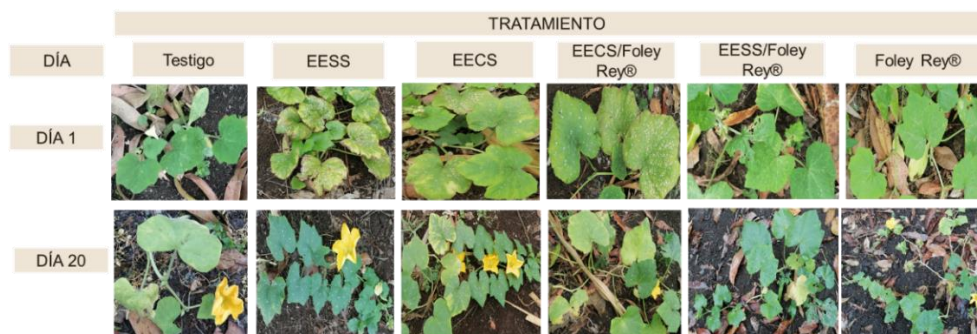


Figura 31. Comparativa fotográfica de los cultivos de calabaza al inicio y final del monitoreo.



Figura 32. Frutos recolectados al día 20 de monitoreo en cultivos tratados con EECS (A) y EESS (B).

Por último, derivado de la información recolectada durante la aplicación en campo de EECS y EESS, se realizó un análisis del costo aproximado según el volumen empleado de extracto en 45 plantas cubriendo en su totalidad el área foliar con 125 mL del extracto y 125 mL de agua, lo que permitió incorporar en el precio el volumen de solvente a utilizar, la cantidad (g) de frutos de chiltepín maduros, los filtros usados, la energía eléctrica requerida en el equipo de extracción y el supuesto de un mínimo de 1700 plantas por hectárea para un agricultor que se dedica a la venta del fruto y flores de calabaza a escala comercial (Tabla 13).

Tabla 13. Precio de los extractos etanólicos de chiltepín

Tratamiento	Total	Por planta	Precio x Aspersión x Hectárea
EECS	\$8.17	\$0.181	\$307.7 *
EESS	\$13.17	\$0.292	\$496.4 *

* Para un cultivo de 1700 plantas por hectárea

9.4 Evaluación ecotoxicología aguda de EECS, EESS y Foley Rey® en el modelo *Daphnia magna*

La presencia de agentes tóxicos en los ecosistemas acuáticos ha aumentado de forma vertiginosa en los últimos años (Martins *et al.*, 2007). La evaluación y seguimiento de estos compuestos se debe realizar mediante la aplicación de una serie de metodologías, que involucren organismo bioindicadores como *Daphnia magna*. Pruebas de toxicidad crónica y aguda con *D. magna* se encuentran entre los estudios realizados con mayor frecuencia en toxicología acuática (Lee *et al.*, 2019).

El modelo *D. magna* posee un cuerpo transparente, su cultivo es fácil de mantenimiento, corto tiempo de generación, sensibilidad a factores estresantes y cambios ambientales (Pérez *et al.*, 2015) son bondades que permitieron la evaluación del plaguicida comercial Foley Rey®, el cual contiene dos compuestos activos clorpirifos etil y permetrina; la toxicidad acuática de dichos compuestos se señala en su ficha de seguridad como categoría 1, siendo altamente tóxicos para organismos acuáticos. La toxicidad acuática de estos compuestos en combinación no ha sido evaluada; sin embargo, de forma individual se encuentra reportado para clorpirifos etil, 760 ng/L a las 48 h en *Daphnia magna* (Maggio *et al.*, 2021) y 0.0001 mg/L para permetrina.

La prueba en laboratorio empleando Foley Rey® reveló un valor de CE₅₀ de 378 ng/L y 52.92 ng/L de clorpirifos etil y permetrina respectivamente. La combinación de ambos compuestos tiene un efecto más severo al requerir de dosis menores a las reportadas en *Daphnia magna* (Maggio *et al.*, 2021).

El extracto etanólico de frutos maduros de chiltepín causó mortandad a concentraciones superiores al del plaguicida comercial en daphnidos. El valor de CE₅₀ para EESS y EECS fue de 2.17 y 3.04 mg/L de capsaicina, respectivamente, siendo el EECS con menor contenido de capsaicina, la cantidad aplicada debe ser mayor a la de EESS para causar la muerte del 50% de la población de daphnidos expuesta. Los extractos botánicos tienen un menor impacto ecotoxicológico acuático, los cuales en conjunto con la fauna benéfica permitiría regular las plagas (Román-Farje *et al.*, 2017). El uso de sistemas biológicos como *Daphnia magna* permitió determinar la toxicidad de los extractos y servirá como punto de referencia para su futura comercialización (Martínez *et al.*, 2010).

9.5 Evaluación ecotoxicología crónica de EECS, EESS y Foley Rey® en el modelo *Daphnia magna*

La exposición crónica consistió en aplicar una dosis 10 veces menor a la identificada en la CE₅₀ con el modelo Probit. Neonatos de menos de 24 h de edad fueron

expuestos a Foley Rey® [37.86 ng/L Clorpirifós etil / 5.29 ng/L Permetrina], EESS [0.217 mg/L capsaicina] y EECS [0.3045 mg/L capsaicina].

El análisis ecotoxicológico crónico tuvo por objetivo evaluar la respuesta de *Daphnia magna* ante EECS, EESS y Foley Rey® durante 19 días. El impacto ecológico de estos tratamientos se analizó a través del estudio de su dinámica poblacional (Tabla 14), que se cuantificó a través de la cantidad de neonatos expulsado, primer día de reproducción, natalidad, esperanza de vida y estructura poblacional (Asaeda y Acharya, 2000). En el estudio se identificó cuatro etapas principales en el desarrollo del organismo: neonato, joven, adulto y hembra en estado de gravidez.

Tabla 14. Efecto de los tratamientos en parámetros de historia de vida en una población de *D. magna*

Parámetro evaluado	Poblaciones experimentales			
	Control	EECS	EESS	Foley Rey®
Primera reproducción (días)	9 ± 0.7 ^a	12 ± 2.03 ^{ab}	9 ± 0 ^a	11 ± 0 ^b
Reproducción total	321 ± 12.7 ^b	182 ± 20.8 ^a	161 ± 18 ^a	174 ± 14.9 ^a
Neonatos por hembra	6.8 ± 0.42 ^c	2.4 ± 0.18 ^{ab}	1.6 ± 0.24 ^a	3.0 ± 0.49 ^b
Esperanza de vida (días)	40 ± 0.64 ^b	21 ± 2.55 ^a	21 ± 2.70 ^a	19 ± 0.5 ^c

El primer parámetro evaluado fue el día en que se registró la primera expulsión de neonatos, esto ocurre cuando el individuo llega a su adultez y es fértil (Hebert, 1978). En condiciones adecuadas *Daphnia magna* alcanza su madurez sexual al día 9, ante la presencia de Foley Rey® y EECS su reproducción se retrasó 2 y 3 días respectivamente ($p < 0.05$), esto se debe al proceso de adaptación de los dafnidos (Coors *et al.*, 2004); sin embargo, esto no fue así para EESS con el cual la primera puesta de neonatos se registró el mismo día que el grupo control (Tabla 14). El retraso en la reproducción pudo deberse a la compleja naturaleza del EECS debido a que en las semillas del chile se encuentran compuestos aromáticos, los cuales pueden afectar a los dafnidos (Roa Ñancuqueo, 2020); contrario a EESS en el cual las semillas se descartaron del fruto.

El clorpirifos, componente principal del plaguicida comercial Foley Rey® inactiva de forma irreversible a la enzima acetilcolinesterasa (Palma *et al.*, 2009). El resultado de la exposición crónica a la mezcla de clorpirifos y permetrina a una concentración

subletal causó el desplazamiento de la etapa de reproducción partenogenética de las hembras (Tabla 14).

Los cladóceros como *Daphnia magna* exhiben una tasa de crecimiento alta debido a que su reproducción es mediante partenogénesis (Gandara *et al.*, 2013), esto lo vuelve un parámetro importante a evaluar en ensayos crónicos. Los dafnidos expuestos a EECS, EESS y Foley Rey® mostraron reducción del 50% de neonatos expulsados en comparación con el grupo control ($p < 0.05$).

El descenso en la fecundidad de los grupos expuestos a EECS, EESS y Foley Rey® repercutió en la cantidad de neonatos expulsados por hembra grávida con respecto al grupo control ($p < 0.05$), a pesar de la disminución, los dafnidos expuestos a Foley Rey® tuvieron una mayor producción de neonatos por hembra grávida (Tabla 14).

La esperanza de vida es un parámetro que permitió estimar el tiempo promedio de vida que alcanzarían los individuos si son expuestos desde neonatos a Foley Rey®, EECS y EESS, etapa en la cual son más sensibles (Alvarez-Rodríguez *et al.*, 2005). Los individuos del grupo control presentaron un valor de esperanza de vida de 44 días, relacionado con un ciclo normal de vida (Hebert, 1978). Este valor disminuyó a la mitad para EECS > EESS > Foley Rey® ($p > 0.05$), atribuido a la exposición temprana a los compuestos (Tabla 14).

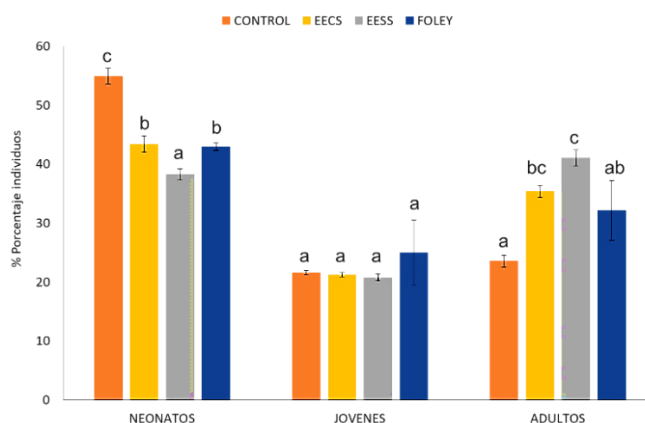


Figura 33. Distribución población de *D. magna* expuesta a EECS, EESS y Foley Rey® durante 19 días.

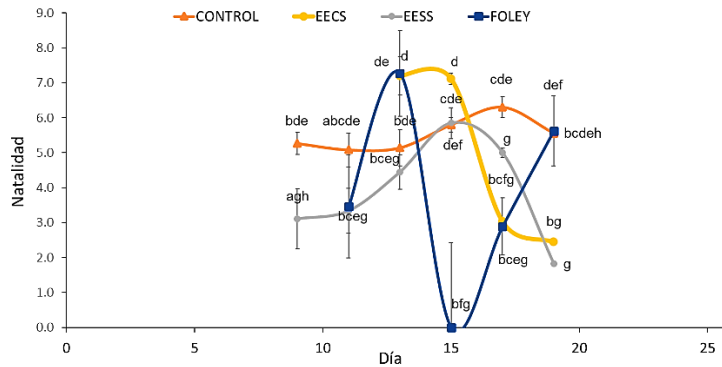


Figura 34. Efecto de EECS, EESS y Foley Rey® en la natalidad de *D. magna*. La natalidad se calculó con el número promedio de nacimientos por cada 10 hembras. Las diferencias significativas son señaladas con letras ($P < 0.05$), ANOVA de una vía.

El análisis de la dinámica poblacional de *D. magna* implicó su clasificación en tres clases: neonatos, jóvenes y adultos (Figura 33). En el grupo control se observó una mayor proporción de neonatos con respecto a los registrados a EECS, EESS y Foley Rey® ($p < 0.05$), esto se debe a que la presencia de compuestos en el medio de cultivo tuvo un efecto estresor sobre los dafnidos y promovió el desplazamiento de primer día de reproducción para el grupo con Foley Rey® y EECS (Figura 34).

La desproporción de la estructura poblacional para el grupo con EESS tuvo como consecuencia la disminución de la natalidad (Figura 34) al registrar una menor cantidad de neonatos expulsados por hembra grávida. En condiciones óptimas la poblacional se encuentra constituida en menor cantidad por adultos (LeBlanc, 1982), sin embargo, para EECS y EESS el número de adultos fue mayor que en el grupo control y Foley Rey® ($p < 0.05$), esto no es negativo debido a que los organismos pasan por un proceso de adaptación (Billoir *et al.*, 2007) a los extracto orgánicos, así también es relevante destacar que la cantidad adicionada a su medio de cultivo fue mayor a la administrada con Foley Rey®, debido a su mezcla con permetrina. La importancia de un ensayo crónico con una mezcla de compuestos permitió conocer su toxicidad en conjunto, esto permitirá asentar nuevos criterios de calidad ambiental con un enfoque amplio y prospectivo (Hassold y Backhaus, 2014).

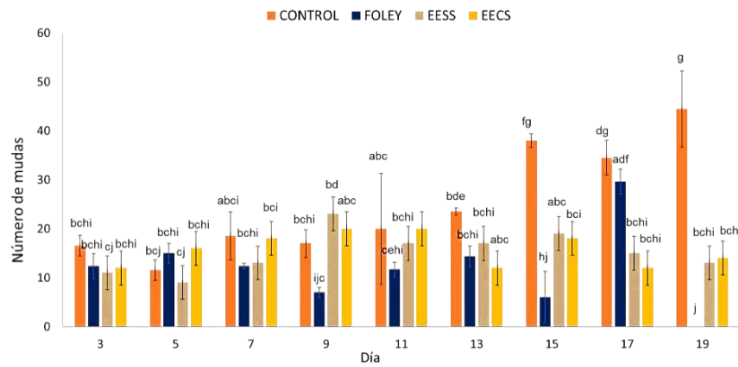


Figura 35. Mudas registradas en los tratamientos durante el periodo de monitoreo.

La muda es un fenómeno importante para la reproducción, el crecimiento y el desarrollo de *Daphnia* (Chen *et al.*, 2019). Un sistema multihormonal complejo controla este proceso, la cantidad de mudas se seleccionó como un parámetro sensible a la toxicidad crónica de los extractos etanólicos de chiltepín y el plaguicida comercial. Una reducción en la cantidad de mudas se observó en dafnidos expuestos a Foley Rey® en comparación al grupo control, EECS y EESS ($p < 0.05$), no así para el día 17 del monitoreo en el cual hubo un incremento significativo, con una caída abrupta al día 19. Este efecto se debe a la presencia de clorpirifto etil que actuó como agonistas de receptores hormonales, afectando vías enzimáticas implicadas en la biosíntesis, biodisponibilidad y metabolismo de las hormonas (Ventura *et al.*, 2016); por lo tanto, esta sustancia en combinación con la permetrina afectó la frecuencia de muda de los dafnidos.

En lo que respecta a EESS y EECS se observó una disminución en la cantidad de mudas producidas a partir del día 11 y 13 respectivamente ($p < 0.05$), esto se reflejó en la disminución de su tasa de natalidad (Figura 15), debido a que este proceso se encuentra involucrado en la liberación de neonatos partenogénicos (Wolinski *et al.*, 2019).

9.6 Modelo matemático del desarrollo poblacional de *D. magna* expuesta crónicamente a EECS, EESS y Foley Rey®

El análisis ecotoxicológico crónico de EECS, EESS y Foley Rey® en *D. magna* permitió el desarrollo de un modelo matemático predictivo poblacional. En el modelo se consideró los parámetros de historia de vida: cantidad de neonatos expulsado,

primer día de reproducción, natalidad, esperanza de vida y estructura poblacional, discutidos en la sección 9.5.

La dinámica poblacional de *D. magna* se abordó desde su estructura poblacional, la cual se dividió en tres clases: neonatos, jóvenes y adultos (Figura 33). En el modelo se ingresó las probabilidades de supervivencia y transición para cada uno de los grupos, además se consideró la tasa natalidad y día de máximo crecimiento. La información permitió predecir hasta 50 ciclos, siendo cada ciclo de 2 días; se obtuvo una predicción de 100 días del comportamiento poblacional para cada tratamiento (Figura 36).

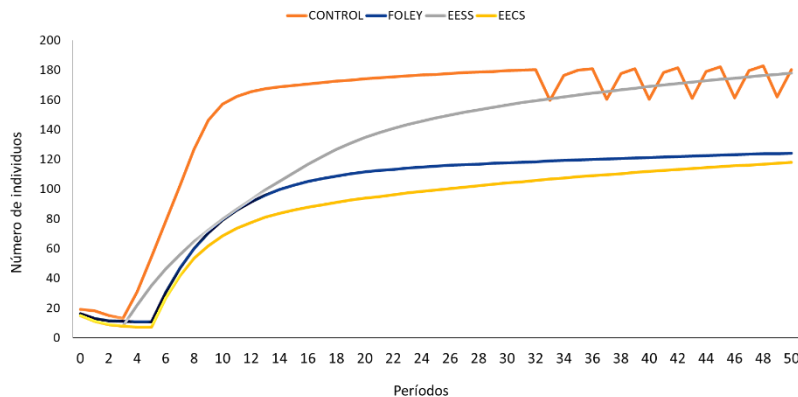


Figura 36. Simulación matemática de una población *D. magna* expuesta a EECS, EESS y Foley Rey®.

En una matriz adecuada al modelo se describieron las probabilidades de supervivencia de neonatos, jóvenes y adultos, de la misma forma se calcularon las probabilidades de transición para cada etapa, de los datos obtenidos experimentalmente de la exposición crónica a EECS, EESS y Foley Rey®. La proyección a través del tiempo se realizó mediante la ecuación de Gompertz (Ec. 1), para lo cual se estableció una capacidad de carga (K) de 185 individuos (neonatos, jóvenes y adultos), además se consideró en el modelo el primer día de reproducción para cada grupo, con lo cual la curva se ajustó para seguir el comportamiento poblacional experimental de los primeros periodos de tiempo.

La simulación población de EESS exhibe una recuperación poblacional comparable a la simulación con EECS y Foley Rey®. Este resultado se debe a que el primer día de reproducción registrado en el grupo con EECS respecto al control no difirió (p

>0.05), sin embargo, en cuanto a sus probabilidades de supervivencia y transición se tuvo un decremento. Así también las probabilidades de EESS ingresadas a la matriz del modelo, tuvieron valores más altos a los calculados para EECS y Foley Rey®.

Partiendo de la proyección realizada mediante la ecuación de Gompertz, se determinó la tasa finita de crecimiento (r), su cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula (Chen, 1979; Kirkwood, 2015):

Fórmula 10

$$r = \left(\frac{Vf}{Vi} \right)^{\left(\frac{1}{n} \right) - 1}$$

Donde:

- r es la tasa finita de crecimiento.
- Vf es el valor final de la variable.
- Vi es el valor inicial de la variable.
- n es la cantidad de períodos de tiempo transcurridos.

Esta tasa de crecimiento discreta permitió evaluar el cambio poblacional de los individuos expuestos a los extractos etanólicos de chiltepín y el plaguicida comercial. El valor de r para los grupos en forma decreciente fue el siguiente: 0.050 (EESS) > 0.046 (Control) > 0.0421(EECS) > 0.0418 (Foley Rey®). Debido a que el valor de “r” para todos los grupos fue mayor a cero indica un crecimiento de la población, como se observó en la simulación (Figura 36), con un cambio poblacional mayor para EESS.

9.7 Modelado complejo del cálculo de ecoexergía en un cultivo infectado de *Curcubita pepo* L.

El uso de redes neuronales artificiales multicapa (RNAM) en la construcción de modelos complejos ha demostrado ser eficaz en la comprensión y predicción de datos (Díaz-Ramírez, 2021). Este tipo de modelo destaca por la incorporación de capas ocultas que potencian la capacidad del perceptrón para identificar patrones con mayor precisión.

El cultivo de calabaza en el estado de Puebla es de relevancia económica y social (Aguilar *et al.*, 2022); debido a ello, la predicción de su aprovechamiento energético en el campo agrícola a través de modelos complejos como las redes neuronales es de importancia.

El desarrollo del modelo ambiental requirió del análisis, clasificación y ordenamiento de los datos recopilados de la actividad plaguicida de los extractos etanólicos de chiltepín y el plaguicida comercial sobre un cultivo de calabaza infectada. El modelado complejo por red neuronal permitió incluir información acerca de factores bióticos y abióticos que influyen en el crecimiento y rendimiento del cultivo. La información constó inicialmente de 13 parámetros, sin embargo, para mejorar su análisis se crearon dos indicadores; esto redujo la dimensión de las variables iniciales y a su vez posibilitó el diseño de modelos de regresión múltiple para el cálculo de estos.

El primer indicador se conformó con las variables temperatura, nubosidad, humedad y viento, registrados en la zona de cultivo. A este indicador se le nombró “Condiciones climáticas para el cultivo de calabaza”, su importancia en la red neuronal radica en el análisis de los factores climáticos clave que influyen en el crecimiento de las plantas de calabaza.

El segundo indicador comprendió a las variables: materia orgánica, nitratos, fósforo, potasio, calcio, magnesio y sodio; los cuales fueron analizados de muestras de suelo del área de cultivo siguiendo la NOM-021-SEMARNAT-2000. El nombre atribuido a este indicador fue “Calidad del suelo para el cultivo de calabaza”, en él se contemplaron los niveles de nutrientes y propiedades del suelo esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. La construcción de estos indicadores requirió de una investigación sobre las condiciones ideales para el cultivo de calabaza (Andrés Ruíz, 2012; Ebel *et al.*, 2017). Los modelos de regresión múltiple fueron entrenados con los datos de las condiciones óptimas y no idóneas para el cultivo de calabaza, se puntuaron del 0 a 1, entre más cercano a 1 mejor eran las condiciones de cultivo.

La ecoexergía es un parámetro holístico que facilitó medir el grado de desarrollo del modelo *Cucurbita pepo*; el aumento de ecoexergía implicó un incremento en el aprovechamiento energético de las plantas de calabaza, resultado de la interacción de los componentes ambientales y los tratamientos aplicados. Por lo tanto, el modelo de red neuronal tuvo como datos de entrada a dos indicadores: condiciones climáticas para el cultivo de calabaza (COC) y calidad del suelo para el cultivo de calabaza (CAS), así también como de cinco parámetros: tipo de tratamiento, número de aspersiones, ecotoxicología, peso seco y biomasa de carbono contenida en las flores, tallos y frutos de las plantas en los tratamientos (Figura 37).

Los parámetros como el tipo de tratamiento y número de aspersiones se categorizaron con respecto a su impacto ambiental y persistencia en el ambiente (Arias *et al.*, 2015, Palma *et al.*, 2009), con respecto a su ecotoxicología se ingresó los valores de la tasa finita de crecimiento poblacional obtenido por la simulación con la ecuación de Gompertz.

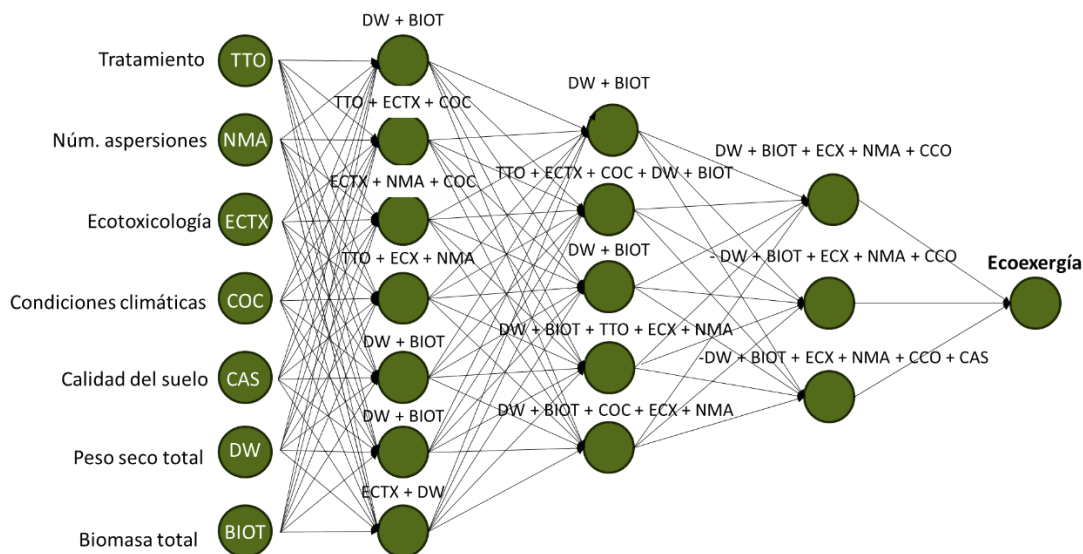


Figura 37. Arquitectura de la red neuronal para la predicción de ecoexergía en *Cucurbita pepo* expuesta a los tratamientos EECS, EESS, Foley Rey®, Foley Rey®-EECS y Foley Rey®-EESS.

Los datos de entrada en la red neuronal artificial recibieron un peso sináptico, el cual cambió durante el proceso de entrenamiento hasta llegar al modelo con mejor ajuste. Este peso es relevante debido a que en él se almacena la información del modelo (Acevedo y Serna, 2017).

El mejor ajuste de pesos entre las neuronas de cada capa que conformaron a la red se obtuvo en la iteración 713 de 1000 (Tabla 15). El error entre los valores predichos por el modelo y los reales se minimizó con el método de gradiente estocástico, y su valor fue 0.00733.

Tabla 15. Pesos sinápticos del modelo con mejor ajuste

Capa	Fórmula
Entrada	Ecoenergía ~ TTO + NMA + ECTX + COC + CAS + DW + BIOT
Capa oculta 1	1 ° Neurona: $-10.07 + (4.29 * DW) + (4.28 * BIOT)$
	2 ° Neurona: $0.644 + (-0.82 * TTO) + (-0.84 * ECTX) + (-0.71 * COC)$
	3 ° Neurona: $-0.910 + (-1.15 * ECTX) + (-0.92 * NMA) + (-0.75 * COC)$
	4 ° Neurona: $-0.468 + (-2.08 * TTO) + (-1.56 * ECTX) + (-0.98 * NMA)$
	5 ° Neurona: $-1.62 + (-10.78 * DW) + (-8.60 * BIOT)$
	6 ° Neurona: $-1.62 + (1.55 * DW) + (2.66 * BIOT)$
	7 ° Neurona: $1.00 + (-0.91 * ECTX) + (-2.19 * DW)$
Capa oculta 2	1 ° Neurona: $1.34 + (31.09 * 5NRLT1CO)$
	2 ° Neurona: $0.001 + (-1.37 * 2NRLT1CO) + (-6.58 * 5NRLT1CO) + (-1.41 * 7NRLT1CO)$
	3 ° Neurona: $-1.026 + (-42.41 * 5NRLT1CO)$
	4 ° Neurona: $-0.82 + (4.17 * 1NRLT1CO) + (3.76 * 4NRLT1CO)$
	5 ° Neurona: $1.28 + (-3.2 * 1NRLT1CO) + (-1.21 * 3NRLT1CO) + (-3.18 * 6NRLT1CO)$
Capa oculta 3	1 ° Neurona: $0.52 + (12.61 * 5NRLT2CO)$
	2 ° Neurona: $1.11 + (-5.11 * 1NRLT2CO) + (-4.31 * 3NRLT2CO) + (-9.66 * 5NRLT2CO)$
	3 ° Neurona: $-0.32 + (10.46 * 2NRLT2CO)$
Salida	$-2.43 + (-6.98 * 3NRLT3CO)$

NRLT: Neurona de capa oculta

CO: Capa oculta

Una red neuronal artificial multicapa consta de más de dos capas ocultas que procesan información desde la entrada hasta la salida (Johnson y Padilla, 2005). En la primera capa, las neuronas recibieron datos de los parámetros e indicadores establecidos como TTO, NMA, ECTX, COC, CAS, DW y BIOT; estos fueron ponderados por sus coeficientes de entrada y transferidos a la primera capa oculta (1CO) usando el algoritmo de retropropagación. En la 1CO se tuvo un número igual de neuronas que datos de entrada, siguiendo la recomendación de la literatura (Johnson y Padilla, 2005). Las capas ocultas consecutivas 2CO y 3CO disminuyeron el número de neuronas. Las neuronas de las capas ocultas (NRLT) se indican por su posición; si vienen de 1CO, van de 1NRLT a 7NRLT; si pertenecen a 2CO, su posición va de 1NRLT a 5 NRLT, y para 3CO, se redujo a solo 3 neuronas (Figura 37).

La comprensión de la red neuronal consistió en identificar los pesos relevantes en cada capa (Tabla 15). En la primera capa destaca la primera (1NRLT1CPO) y quinta neurona (5NRLT1CPO), cuyas conexiones de mayor peso fueron para las entradas DW y BIOT (Figura 37); en esta primera capa se evaluó el crecimiento y desarrollo de las plantas con lo cual se comprendió el estado de salud de la planta de calabaza. La segunda capa recibió los nuevos pesos ajustados de la primera capa (Díaz-Ramírez, 2021), siendo para ello la segunda (2NRLT2CPO), cuarta (4NRLT2CPO) y quinta neurona (5NRLT2CPO) las receptoras de más datos, dado el seguimiento de los datos de entrada, esta segunda capa concentró la información de DW, BIOT, ECTX, NMA y COC. Por lo tanto, en la segunda capa, la información se analizó desde una perspectiva social, esto implicaría la toma de conciencia de los agricultores en cuanto al uso plaguicidas químicos u orgánicos. Esta selección estaría basada en la información de las condiciones ambientales del sitio de cultivo, lo que permitirá la toma de decisión de manera informada y consciente de las prácticas agrícolas empleadas en la siembra de calabaza. Las predicciones generadas por esta capa permitirán generar cambios positivos en las prácticas de los agricultores con lo cual se podrá contribuir hacia un futuro más sostenible y equilibrado con el entorno natural.

La tercera capa solo contempló tres neuronas; los pesos sinápticos más altos provenientes de la segunda capa oculta se encontraron en la primera (1NRLT3CPO) y tercera neurona (3NRLT3CPO). En esta parte de la red neuronal se observó la concentración de todos los valores de entrada en dos salidas positivas y una negativa en el centro (2NRLT3CPO). La reducción en el número de neuronas permitió tener como salida del modelo a la ecoexergía.

La ecoexergía permitió la creación de un modelo predictivo para el estudio del aprovechamiento energético de cultivos como la calabaza, así también evaluar el impacto de actividades humanas en la sostenibilidad de la naturaleza y conservación de la biodiversidad.

9.7.1 Evaluación del desempeño del modelo ambiental

Las predicciones realizadas por el modelo fueron evaluadas, al compararse con los datos ingresados de ecoexergía. La capacidad de predicción de la red neuronal se valoró a través de una matriz de confusión (López-Betancur *et al.*, 2021), con la cual se determinó las veces en las que la red acertó al predecir el dato de ecoexergía (Figura 38).

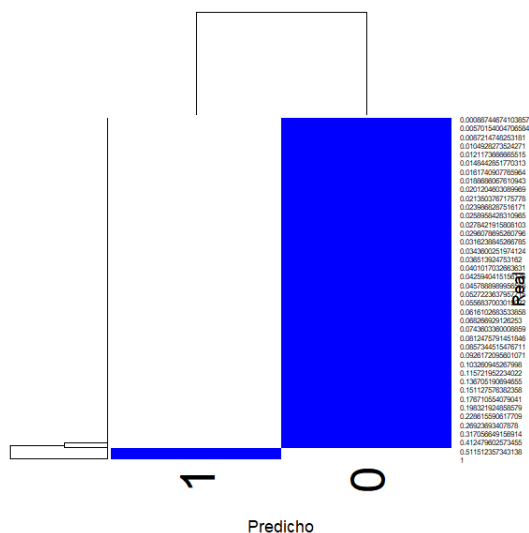


Figura 38. Matriz de confusión de la salida “ecoexergía” de la red neuronal.

El aprendizaje de la red neuronal se asocia a la eficiencia del entrenamiento, para ello los datos de entrada se establecieron cuidadosamente. La red neuronal del estudio clasificó correctamente el valor de ecoexergía para cada tratamiento. Este

valor indicó el aprovechamiento energético de las plantas de calabaza asociado a su recuperación de la salud y aumento de biomasa. En el modelo se establecieron 1000 épocas de entrenamiento, las cuales fueron las veces en las que los datos fueron introducidos en busca de patrones (Figura 39).

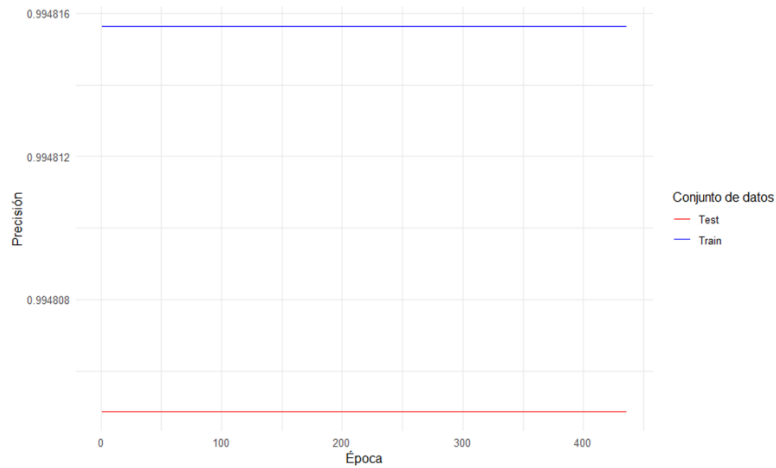


Figura 39. Precisión del modelo vs el número de épocas de entrenamiento

La importancia en la red de cada uno de los datos ingresados al modelo se conoció por el peso otorgado entre cada conexión neuronal, los cuales fueron graficados (Figura 40).

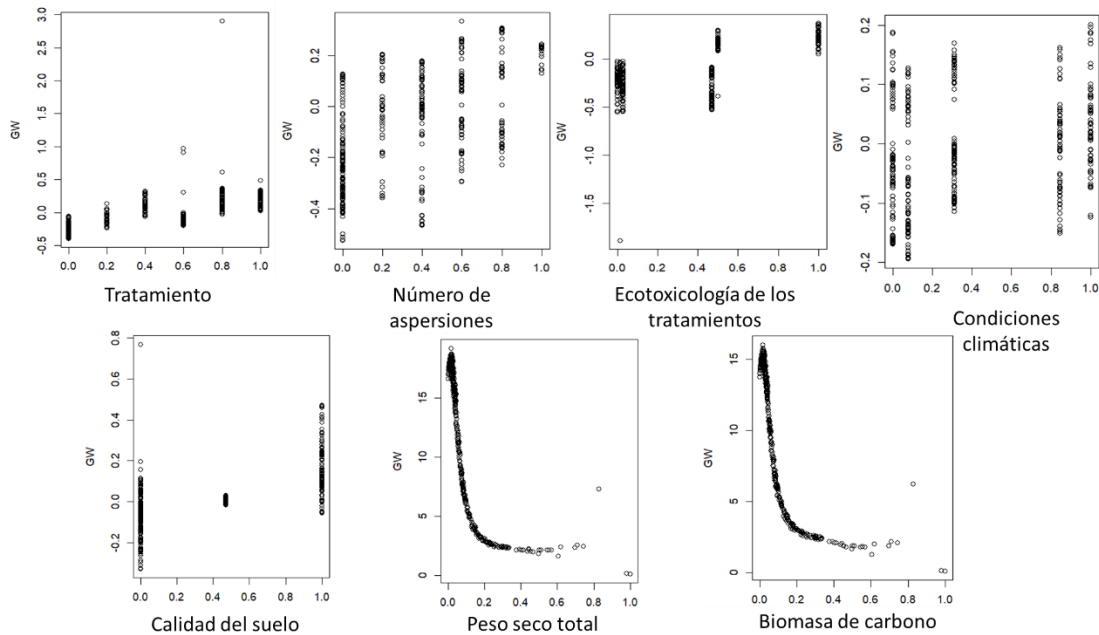


Figura 40. Gráficos de los pesos sinápticos de los parámetros ingresados en la red neuronal

El reconocer los pesos sináptico-relevantes permitirá priorizar la información a incorporar en el modelo, mejorando su aprendizaje y exactitud de los datos a predecir.

10. CONCLUSIÓN

Los extractos etanólicos obtenidos de frutos de chiltepín maduros recolectados en la Sierra Norte de Puebla mostraron en ensayos de laboratorio, efecto fitotóxico en plántulas de *Arabidopsis thaliana* con una mayor efectividad a corto plazo para EESS y a largo plazo para EECS, lo que se atribuyó a que el primero presenta mayor contenido de capsaicina.

El mayor contenido de capsaicina del EESS también pudo relacionarse con su efectividad antifúngica, este extracto es capaz de inhibir el crecimiento del fitopatógeno *Alternaria* spp. a los 7 días de contacto, siendo este efecto superior al del EECS. Por otro lado, el EECS presentó efecto benéfico como promotor de crecimiento en *A. thaliana* a una concentración 10 veces menor que la utilizada en la prueba de fitotoxicidad, además destacó que este tratamiento promueve mayor aprovechamiento energético que el tratamiento EESS.

El tratamiento realizado con EECS en pruebas de campo mostró mejor efecto en el control de plagas de cultivos infectados de *Cucurbita pepo*, eliminando la presencia del fitopatógeno en la planta y promoviendo el desarrollo de su biomasa, estos resultados fueron mejores comparándolos contra un plaguicida comercial de empleo frecuente por agricultores de Venustiano Carranza, Puebla.

Los ensayos de ecotoxicidad aguda evaluados mediante la identificación de los valores de CE₅₀ a las 48 h, demostraron que el plaguicida comercial analizado presentó mayor toxicidad que los EESS y EECS en el modelo de estudio *D. magna*, las concentraciones requeridas para causar la muerte del 50% de neonatos expuestos al herbicida comercial están en el orden de ng/L, mientras que para los

EESS y EECS la concentración de capsaicina para lograr el mismo efecto fue del orden de mg/L.

El impacto ecotoxicológico crónico de los EECS, EESS y el herbicida comercial demostró alteraciones en los parámetros de historia de vida y dinámica poblacional del modelo de agua dulce. El modelo matemático desarrollado para predecir posibles efectos a largo plazo sobre la dinámica poblacional de *D. magna* mostró que los individuos expuestos a los extractos naturales y el producto comercial pueden presentar una recuperación favorable. La modelación mostró que el EESS podría tener un impacto menos perjudicial en el desarrollo poblacional del crustáceo expuesto, incluso a concentración mayor a la del plaguicida comercial.

La aplicación de una red neuronal artificial multicapa como modelo ambiental complejo, demostró ser eficaz en la predicción del aprovechamiento energético de un cultivo de calabaza infectada tratada con EECS, EESS y el herbicida comercial, pues permite considerar múltiples factores mejorando su precisión, mostrando que este modelo de predicción es una herramienta prometedora en la evaluación del impacto ambiental de nuevos tratamientos agrícolas que puedan contribuir a la conservación de la biodiversidad y la sostenibilidad de la agricultura.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, E., Serna, A., y Serna, E. (2017). Principios y características de las redes neuronales artificiales. Desarrollo e innovación en ingeniería, 173.
- Altshuler, I., Demiri, B., Xu, S., Constantin, A., Yan, N. D., y Cristescu, M. E. (2011). An integrated multi-disciplinary approach for studying multiple stressors in freshwater ecosystems: *Daphnia* as a model organism.
- Asaeda, T., y Acharya, K. (2000). Application of individual growth and population models of *Daphnia pulex* to *Daphnia magna*, *Daphnia galeata* and *Bosmina longirostris*. *Hydrobiologia*, 421(1), 141-155.
- Al-Musawi, S., Albukhaty, S., Al-Karagoly, H., Sulaiman, G. M., Alwahibi, M. S., Dewir, Y. H., ... & Rizwana, H. (2020). Antibacterial activity of honey/chitosan nanofibers loaded with capsaicin and gold nanoparticles for wound dressing. *Molecules*, 25(20), 4770.
- Alvarez-Rodríguez, C. J., Chávez-Martín, A. F., García-Chávez, R. A., Sandoval-Zamora, E., de Alba-García, J. E. G., & Salcedo-Rocha, A. L. (2005). Aplicación del

cálculo de esperanza de vida y años de vida perdidos por DM2 y HTA, como estimadores del impacto de estas patologías en la población mayor de 40 años del Estado de Jalisco, México. *Revista Biomédica*, 16(4), 247-254.

- Abellán, O. F., Martínez, O., Alejo, N. O., Savirón, M., Orduna, J., & Claver, A. G. (2018). Evolución del contenido de capsinoides y capsaicinoides durante la maduración de los frutos de "Chiltepín" "C. annum" L. var. "glabriusculum". In IX Congreso de Mejora Genética de Plantas: Murcia 2018 (pp. 140-143). Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario.
- Arabaci, B., Gulcin, I., & Alwasel, S. (2014). Capsaicin: a potent inhibitor of carbonic anhydrase isoenzymes. *Molecules*, 19(7), 10103-10114.
- Arc, E., Galland, M., Godin, B., Cueff, G., & Rajjou, L. (2013). Nitric oxide implication in the control of seed dormancy and germination. *Frontiers in Plant Science*, 4, 346.
- Ashe, L. M., & Sonnino, R. (2013). At the crossroads: new paradigms of food security, public health nutrition and school food. *Public health nutrition*, 16(6), 1020-1027.
- Ahmad, G., Khan, A. A., & Mohamed, H. I. (2021). Impact of the low and high concentrations of fly ash amended soil on growth, physiological response, and yield of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. Ex Poiret L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 28(14), 17068-17083.
- Andrés Ruíz, I. M. (2012). Estudio preliminar para el desarrollo de una colección de mutantes en calabacín (*Cucurbita pepo*).
- Anaya-Esparza, L. M., Mora, Z. V. D. L., Vázquez-Paulino, O., Ascencio, F., & Villarruel-López, A. (2021). Bell peppers (*Capsicum annum* L.) losses and wastes: Source for food and pharmaceutical applications. *Molecules*, 26(17), 5341.
- Argente, Estefanía & Sapena, Oscar & Botti, V. & Serra, Jose & Chica, Antonio & Corma, A. (2022). Aplicación de una red neuronal para la predicción de la reacción catalítica isomerización del n-Octano.
- Arias, T. L., Mattos, A. E., & Peris, S. (2015). Evaluación ecotoxicológica de arroyos de la reserva San Rafael y su zona de amortiguamiento mediante bioensayos con *Daphnia magna* y *Lactuca sativa*. *Steviana*, 7, 102-115.
- Asaeda, T., & Acharya, K. (2000). Application of individual growth and population models of *Daphnia pulex* to *Daphnia magna*, *Daphnia galeata* and *Bosmina longirostris*. *Hydrobiologia*, 421, 141-155.
- Bañuelos, N., Salido, P. L. y Gardea, A. (2008). Etnobotánica del chiltepín. Pequeño gran señor de la cultura de los Sonorenses. Centro de Investigación y Desarrollo A.C. 16 (32), pp. 7- 30.
- Barbero, G. F., Liazid, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, 75(5), 1332-1337.
- Batiha, G. E. S., Alqahtani, A., Ojo, O. A., Shaheen, H. M., Wasef, L., Elzeiny, M., ... & Hetta, H. F. (2020). Biological properties, bioactive constituents, and pharmacokinetics of some *Capsicum* spp. and capsaicinoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5179.
- Barceló J, Nicolás G, Sabater B, Sánchez R. (2001). Fisiología Vegetal, Pirámide.
- Bownik, A. (2019). Effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* exposed to dimethyl sulfoxide. *Science of The Total Environment*, 683, 193-201.

- Bhadoria, P. B. S. (2011). Allelopathy: a natural way towards weed management. *American Journal of Experimental Agriculture*, 1(1), 7-20.
- Bernstein, H. (2014). Food sovereignty via the 'peasant way': a sceptical view. *Journal of Peasant Studies*, 41(6), 1031-1063.
- Beuchelt, T. D., & Virchow, D. (2012). Food sovereignty or the human right to adequate food: which concept serves better as international development policy for global hunger and poverty reduction?. *Agriculture and Human Values*, 29(2), 259-273.
- Buitimea-Cantúa, G. V., Buitimea-Cantúa, N. E., Rocha-Pizaña, M. D. R., Hernández-Morales, A., Magaña-Barajas, E., & Molina-Torres, J. (2020). Inhibitory effect of *Capsicum chinense* and *Piper nigrum* fruits, capsaicin and piperine on aflatoxins production in *Aspergillus parasiticus* by downregulating the expression of afl D, afl M, afl R, and afl S genes of aflatoxins biosynthetic pathway. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(9), 835-843.
- Campesina, V. (2015). Food sovereignty: A future without hunger. Statement by the NGO Forum to the World food summit, NGO Forum to the world food summit. 1996.
- Caughey-Espinoza, M., Miriam, D., Buitimea-Cantúa, G. V., Buitimea-Cantúa, N. E., Ayala-Astorga, G. I., & Ochoa-Meza, A. (2020). Propiedades fisicoquímicas y rendimiento de frutos de chile chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum* Dunal) cultivados bajo diferentes condiciones de crecimiento. *Idesia (Arica)*, 38(3), 77-86.
- Carter MR, Ball B (1993) Soil porosity. In: Carter MR (ed) Soil sampling and methods of analysis. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton, pp 581–588
- Cárdenas Gallegos, J. (2019). Evaluación del crecimiento y la susceptibilidad a patógenos después de la aplicación de dosis mínimas de glifosato en *Arabidopsis thaliana* (Bachelor's thesis, Quito).
- Casas, G. A., Rodríguez, D., & Téllez, G. A. (2010). Propiedades matemáticas del modelo de Gompertz y su aplicación al crecimiento de los cerdos. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 23(3), 349-358.
- Chen, C. Y. (1979). Dinámica de la población. Universidad Católica Andrés.
- Coors, A., Hammers-Wirtz, M., & Ratte, H. T. (2004). Adaptation to environmental stress in *Daphnia magna* simultaneously exposed to a xenobiotic. *Chemosphere*, 56(4), 395-404.
- Cesáreo, F., & César, J. (2019). *Impactos ambientales del uso de agroquímicos sobre la calidad del agua en la subcuenca Huaquechula, Puebla* (Master's thesis).
- Chappell, M. J., Wittman, H., Bacon, C. M., Ferguson, B. G., Barrios, L. G., Barrios, R. G., ... & Perfecto, I. (2013). Food sovereignty: an alternative paradigm for poverty reduction and biodiversity conservation in Latin America. *F1000Research*, 2.
- Chavarría, M. A. P., Silva, H. H. H., & Torres, F. J. O. (2002). Predicción de series de tiempo aplicando redes neuronales artificiales. *Ciencias Marinas*, 28(1), 67-77.
- Cheung, D. S., & Grubenhoff, J. A. (2019). Machine learning in clinical medicine still finding its way. *JAMA network open*, 2(1), e186926-e186926.
- Chen, H., Gu, X., Zeng, Q., & Mao, Z. (2019). Acute and chronic toxicity of carbamazepine on the release of chitinase, molting, and reproduction in *Daphnia similis*. *International journal of environmental research and public health*, 16(2), 209.

- Chopra SL, Kanwar JS (1991) Analytical agricultural chemistry. Kalyani Publishers, New Delhi-Ludhiana
- Claros Cuadrado, J. L., Pinillos, E. O., Tito, R., Mirones, C. S., & Gamarra Mendoza, N. N. (2019). Insecticidal properties of capsaicinoids and glucosinolates extracted from *Capsicum chinense* and *Tropaeolum tuberosum*. *Insects*, 10(5), 132.
- Cisneros-Pineda, O., Torres-Tapia, L. W., Gutiérrez-Pacheco, L. C., Contreras-Martín, F., González-Estrada, T., & Peraza-Sánchez, S. R. (2007). Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 104(4), 1755-1760.
- Chile Piquín - La Picanteca del Sur. (s. f.). La Picanteca del Sur. <https://lapicantecadelsur.es/chile-piquin/>
- Crespo, C. & Salamanca, C. (2007). El muestreo en la investigación cualitativa. *Revista Nure Investigación*, 27(2), 1-4.
- Davis, C. B., Markey, C. E., Busch, M. A., & Busch, K. W. (2007). Determination of capsaicinoids in habanero peppers by chemometric analysis of UV spectral data. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(15), 5925-5933.
- Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4022-4034.
- De Benítez, C. G., Pece, M., de Galíndez, M. J., Maldonado, A., Acosta, V. H., & Gómez, A. (2002). Biomasa aérea de ejemplares de quebracho blanco (*Aspidosperma quebracho-blanco*) en dos localidades del Parque Chaqueño Seco. *Quebracho-Revista de Ciencias Forestales*, (9), 115-127.
- De la Cruz-Ricardez, D. D., Ortiz-García, C. F. C. F., Lagunes-Espinoza, L. D. C., Torres-de la Cruz, M., & Hernández-Nataren, E. (2020). Compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides en frutos de *Capsicum* spp. De Tabasco, México. *Agrociencia*, 54(4), 505-519.
- De La Rocha, J. F. L., Bojórquez-Ramos, C., Francisco-Francisco, N., Olivares-Hernandez, A., López-España, R. G., Reyes-Duque, Y., & Pérez-Olvera, P. (2020). Identificación del agente causal del mildiu polvoriento en plantas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) en Tehuacán, México. *Revista de Protección Vegetal*, 35(2).
- Delgado, F., & Rist, S. (2016). Ciencias, diálogo de saberes y transdisciplinariedad. Aportes teórico metodológicos para la sustentabilidad alimentaria y del desarrollo. AGRUCO-UMSS-CDE.
- Dodson, S. I., & Hanazato, T. (1995). Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behavior, and reproduction of *Daphnia*, a key member of aquatic ecosystems. *Environmental health perspectives*, 103(suppl 4), 7-11.
- Doka, G., Hillier, W., Kaila, S., Köllner, T., Kreißig, J., Muys, B., ... & Wessman, H. (2002). The assessment of environmental impacts caused by land use in the life cycle assessment of forestry and forest products. Final Report of Working Group, 2.
- Dong, X., Li, X., Ding, L., Cui, F., Tang, Z., & Liu, Z. (2014). Stage extraction of capsaicinoids and red pigments from fresh red pepper (*Capsicum*) fruits with ethanol as solvent. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 396-402.
- Díaz-Ramírez, J. (2021). Aprendizaje Automático y Aprendizaje Profundo. *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 29(2), 180-181.

- Ebel, R., Pozas Cárdenas, J. G., Soria Miranda, F., & Cruz González, J. (2017). Manejo orgánico de la milpa: rendimiento de maíz, frijol y calabaza en monocultivo y policultivo. *Terra Latinoamericana*, 35(2), 149-160.
- Eguiarte, L. E., Hernández-Rosales, H. S., Barrera-Redondo, J., Castellanos-Morales, G., Paredes-Torres, L. M., Sánchez-de la Vega, G., ... & Lira, R. (2018). Domesticación, diversidad y recursos genéticos y genómicos de México: El caso de las calabazas. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21.
- Escobar-Chávez, C., Alvaríño, L., & Iannacone, J. (2019). Evaluación del riesgo ambiental acuático de la mezcla de los plaguicidas imidacloprid (insecticida) y propineb (fungicida) en *Daphnia magna* Straus, 1820. *Paideia XXI*, 9(2), 301-332.
- Estrada, B., Bernal, M.A., Díaz, J., Pomar, F. and Merino, F. 2000. Fruit development in *Capsicum annuum*: changes in capsaicin, lignin, free phenolics, and peroxidase patterns *J. Agric. Food Chem.* 48:6234-6239.
- Ekom, S. E., Tamokou, J. D. D., & Kuete, V. (2021). Antibacterial and Therapeutic Potentials of the *Capsicum annuum* Extract against Infected Wound in a Rat Model with Its Mechanisms of Antibacterial Action. *BioMed research international*, 2021.
- Fath, B. D., Patten, B. C., & Choi, J. S. (2001). Complementarity of ecological goal functions. *Journal of theoretical biology*, 208(4), 493-506.
- Fargašová, A. (1994). Comparative study of plant growth hormone (herbicide) toxicity in various biological subjects. *Ecotoxicology and environmental safety*, 29(3), 359-364.
- Fayos Avellán, O., Martínez, O., Ochoa Alejo, N., Savirón, M., Orduna, J., & Garcés Claver, A. (2018). Evolución del contenido de capsinoides y capsaicinoides durante la maduración de los frutos de 'Chiltepín' *C. annuum* L. var. *glabriusculum*.
- Fernández, G. (S/f). Researchgate.net. Recuperado el 13 de noviembre de 2022, de https://www.researchgate.net/profile/Guillermo-Rodriguez-8/publication/317000684_Estudio_de_germinacion_de_semillas_de_Arabidopsis_thaliana_mutantes_de_genes_PEPC_y_PEPC-quinasa/links/591d6234aca272d31bcd5bf6/Estudio-de-germinacion-de-semillas-de-Arabidopsis-thaliana-mutantes-de-genes-PEPC-y-PEPC-quinasa.pdf
- Flores, M. (2004). Implicaciones de los paradigmas de investigación en la práctica educativa. *Revista Digital Universitaria*, 5 (1), 2-9.
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., ... & Zaks, D. P. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7369), 337-342.
- Fonseca, J.; Marques, J.; Paiva, A.; Freitas, A.; Madeira, V.; Jørgensen, S. (2000). Nuclear DNA in the determination of weighing factors to estimate exergy from organisms biomass. *Ecological Modeling*, 126, 179-189.
- Frias, B., & Merighi, A. (2016). Capsaicin, nociception and pain. *Molecules*, 21(6), 797.
- Gaviria-Hernández, V., Patiño-Hoyos, L. F., & Saldarriaga-Cardona, A. (2013). Evaluación in vitro de fungicidas comerciales para el control de *Colletotrichum* spp., en mora de castilla. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(1), 67-75.
- Garcés Veloz, R. J. (2013). Implementación de una técnica biológica para determinar niveles de toxicidad aplicando *Daphnia magna* (Crustácea: Cladóceras) en el agua de vertiente utilizada en el sector de huachi la libertad (Bachelor's thesis,

Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Bioquímica).

- Gandara, M., Galdino, R. L., & Caraballo, P. (2013). Historia de vida de *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia reticulata* en condiciones de laboratorio: uso potencial como alimento para peces. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(2), 340-357.
- Geetha, R., & Thilagam, T. (2021). A review on the effectiveness of machine learning and deep learning algorithms for cyber security. *Archives of Computational Methods in Engineering*, 28(4), 2861-2879.
- González-Jara, P., Moreno-Letelier, A., Fraile, A., Piñero, D., & García-Arenal, F. (2011). Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS One*, 6(12), e28715.
- González-Zamora, A., Sierra-Campos, E., Luna-Ortega, J. G., Pérez-Morales, R., Ortiz, J. C. R., & García-Hernández, J. L. (2013). Characterization of different capsicum varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. *Molecules*, 18(11), 13471-13486.
- Gonzaga Garita, G. (2021). *Identificación de la proteína HSP70 y modelación del desarrollo poblacional por toxicidad de UVB y tratamiento con Dialiltrisulfuro en Daphnia magna* (Bachelor's thesis).
- Gomez, M. C., & Nuñez, C. J. (2019). Evaluación de fungicidas para el control de *Alternaria* spp. en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo condiciones de laboratorio.
- Guba, E., & Lincoln, Y. (1994). Paradigmas en pugna en la investigación cualitativa. In N. Denzin, & I. Lincoln, *Handbook of Qualitative Research* (pp. 105-117). London: Sage
- Haddon Jr, W. (1971). ENVIRONMENT, POWER, AND SOCIETY.
- Hassold, E., & Backhaus, T. (2014). The predictability of mixture toxicity of demethylase inhibiting fungicides to *Daphnia magna* depends on life-cycle parameters. *Aquatic toxicology*, 152, 205-214.
- Hayano-Kanashiro, C., Gámez, N. and Medina-Juárez, L.A. 2015. Wild pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*: Taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. *Crop Sci.* 56:1-11.
- Hebert, P. D. (1978). *The population biology of daphnia (crustacea, daphnidae)*. *Biological Reviews*, 53(3), 387-426.
- Hernández-Verdugo, S., Dávila, P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Botanical Sciences*, (64), 65-84.
- Horie, T. (2019). Global warming and rice production in Asia: Modeling, impact prediction and adaptation. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 95(6), 211-245.
- Horie, T., Nakagawa, H., Centeno, H.G.S. and Kropff, M.J. (1995) The rice crop simulation model SIMRIW and its testing. In *Modeling the Impact of Climate Change on Rice Production in Asia* (eds. Matthews, R.B., Kropff, M.J., Bachelet, D. and van Laar, H.H.). CAB International, Oxon, U.K., pp. 51–66.

- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
- Ileke, K. D., Bulus, D. S., & Aladegoroye, A. Y. (2013). Effects of three medicinal plant products on survival, oviposition and progeny development of cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Chrysomelidae] infesting cowpea seeds in storage. *Jordan Journal of Biological Science*, 6(1), 61-66.
- Intergovernmental Panel of Climate Change 1996. Report of the twelfth session of the intergovernmental Panel of Climate Change. Reference manual and workbook of the IPCC 1996 revised guidelines for national greenhouse gas inventories. Mexico: IPCC
- Jamiołkowska, A., & Sawicki, K. (2011). Biodiversity of fungi colonising aboveground parts of zucchini (*L. var.*). *Folia Horticulturae*, 23(1), 29-35.
- Jørgensen, S. E. (2015). New method to calculate the work energy of information and organisms. *Ecological modelling*, 295, 18-20.
- Jørgensen, S. E., & Fath, B. D. (2004). Application of thermodynamic principles in ecology. *Ecological complexity*, 1(4), 267-280.
- Jørgensen, S. E., & Mejer, H. (1977). Ecological buffer capacity. *Ecological Modelling*, 3(1), 39-61.
- Jørgensen, S., Xu, L., & Costanza, R. (Eds.). (2016). *Handbook of ecological indicators for assessment of ecosystem health*. CRC press.
- Johnson, M., Kang, M. J., & Lawson, T. (2017). Stock price reaction to data breaches. *Journal of Finance Issues*, 16(2), 1-13.
- Kirkwood, T. B. (2015). Deciphering death: a commentary on Gompertz (1825)'On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies'. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1666), 20140379.
- Kim, D., Chae, Y., & An, Y. J. (2017). Mixture toxicity of nickel and microplastics with different functional groups on *Daphnia magna*. *Environmental science & technology*, 51(21), 12852-12858.
- Kulczyński, B., & Gramza-Michałowska, A. (2019). The profile of secondary metabolites and other bioactive compounds in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* pumpkin cultivars. *Molecules*, 24(16), 2945.
- Kopczyńska, K., Średnicka-Tober, D., Hallmann, E., Wilczak, J., Wasiak-Zys, G., Wyszynski, Z., ... & Kazimierczak, R. (2021). Bioactive Compounds, Sugars, and Sensory Attributes of Organic and Conventionally Produced Courgette (*Cucurbita pepo*). *Foods*, 10(10), 2475.
- Latournerie M. L., J. S. López V., G. Castañón N., J. O. Mijangos C., G. Espadas V., A. Pérez G. y E. Ruiz S. 2015. Evaluación agronómica de germoplasma de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agroproductividad* 1: 24-29.
- Laskaridou-Monnerville, A. (1999). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin by micellar electrokinetic capillary chromatography and its application to various species of *Capsicum*, Solanaceae. *Journal of Chromatography A*, 838(1-2), 293-302.
- Lee, B. Y., Choi, B. S., Kim, M. S., Park, J. C., Jeong, C. B., Han, J., & Lee, J. S. (2019). The genome of the freshwater water flea *Daphnia magna*: A potential use for freshwater molecular ecotoxicology. *Aquatic Toxicology*, 210, 69-84.

- Li, B., Yang, M., Shi, R., & Ye, M. (2019). Insecticidal activity of natural capsaicinoids against several agricultural insects. *Natural Product Communications*, 14(7), 1934578X19862695.
- Libralato, S., Torricelli, P., & Pranovi, F. (2006). Exergy as ecosystem indicator: An application to the recovery process of marine benthic communities. *Ecological Modelling*, 192(3-4), 571-585.
- Ling, F., Wang, J. G., Lu, C., Wang, G. X., Lui, Y. H., & Gong, X. N. (2012). Effects of aqueous extract of *Capsicum frutescens* (Solanaceae) against the fish ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitology research*, 111(2), 841-848.
- Long-Solís J. 1986. *Capsicum y cultura: la historia de Chile*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Lotka, A. J. (1922). Contribution to the energetics of evolution. *Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America*, 8(6), 147.
- López-Hernández, F. E., Lobato-García, C. E., Gómez-Rivera, A., Romero-Ceronio, N., & Escobar-Ramos, A. (2011). Extracción y cuantificación espectrofotométrica de capsaicinas a partir de Chile habanero. *Memorias de la Semana de Divulgación y Video científico*, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, 69-72.
- Lu, H., Fu, F., Li, H., Campbell, D. E., & Ren, H. (2015). Eco-exergy and emergy based self-organization of three forest plantations in lower subtropical China. *Scientific reports*, 5(1), 1-13.
- Lu, M., Ho, C. T., & Huang, Q. (2017). Extraction, bioavailability, and bioefficacy of capsaicinoids. *Journal of food and drug analysis*, 25(1), 27-36.
- Tobergte, D., & Curtis, S. (2013). Determinación de capsaicina en salsas tradicionales de Saltillo, Coahuila. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699.
- Lugo-Morin, D. R., de Jesus Desiderio, E., & Franco, M. L. F. (2018). Prácticas y saberes comunitarios en la Sierra Norte de Puebla: el caso del café, sus plagas y enfermedades. *RIAA*, 9(2), 2.
- Martínez, S., Vela, A., Botero, A., Arandia, F., & Mollinedo, P. (2010). Nuevo microbioensayo de ecotoxicidad de extractos acuosos de plantas medicinales sobre *Daphnia magna* sp. *Revista boliviana de química*, 27(1), 29-32.
- Maggio, S. A., Janney, P. K., & Jenkins, J. J. (2021). Neurotoxicity of chlorpyrifos and chlorpyrifos-oxon to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 276, 130120.
- Marıncaş, O., Feher, I., Magdas, D. A., & Puşcaş, R. (2018). Optimized and validated method for simultaneous extraction, identification and quantification of flavonoids and capsaicin, along with isotopic composition, in hot peppers from different regions. *Food chemistry*, 267, 255-262.
- Mariscal Méndez, A., Ramírez Miranda, C. A., & Pérez Sánchez, A. (2017). Soberanía y Seguridad Alimentaria: propuestas políticas al problema alimentario. *Textual: análisis del medio rural latinoamericano*, (69), 9-26.
- Martins, J., Teles, L. O., & Vasconcelos, V. (2007). Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environment International*, 33(3), 414-425.
- Martínez, L., Cilla, I., Antonio Beltrán, J., & Roncalés, P. (2006). Effect of *Capsicum annum* (red sweet and cayenne) and *Piper nigrum* (black and white) pepper

powders on the shelf life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Journal of food science*, 71(1), S48-S53.

- Martínez, L. D. (2014). Uso y manejo de plaguicidas en invernaderos de la región norte del estado de Puebla, México.
- Martínez, M. (2001). El cultivo de la calabacita (*Cucurbita pepo* L.) en México. Monografía. Buena vista, Saltillo, Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División Agronomía. 67p.
- Martínez, N. M., Mayo, V. M. Z., Olalde, J. I. R., Moya, O. R. S., & De Folter, S. (2009). Genómica Funcional de Plantas: Estudio del Desarrollo de Flores y Frutos. *Acta Universitaria*, 19(1), 21-29.
- Martínez, E. G. (2015). " Mode of action and herbicide potential of the terpenoids farnesene and citral on" *Arabidopsis thaliana*" metabolism (Doctoral dissertation, Universidade de Vigo).
- Mesinas, C. M., Pintor, D. A., Becerra, E. V., & Sobrevilla, N. M. (2020). Isotermas de secado en condiciones de laboratorio para pulpa de calabaza (*cucurbita pepo*). *TCTZAPIC: Revista Académico-Científica*, 6(2), 128-134.
- McIntyre, B. D. (2009). International assessment of agricultural knowledge, science and technology for development (IAASTD): Synthesis report with executive summary: A synthesis of the global and sub-global IAASTD reports (No. E14-197).
- McMichael, P. (2007). *Development and social change: A global perspective*. Pine Forge Press. Ithaca, NY.
- Moreno-Calles, A. I., Casas, A., Rivero-Romero, A. D., Romero-Bautista, Y. A., Rangel-Landa, S., Fisher-Ortíz, R. A., ... & Santos-Fita, D. (2016). Ethnoagroforestry: integration of biocultural diversity for food sovereignty in Mexico. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 12(1), 1-21.
- Molina, C., Morales, A., & Márquez, A. (2010). Técnicas para el establecimiento y producción de chiltepín silvestre bajo un sistema agroforestal en Sonora, México. *SEMARNAT*, 1, 6-34.
- Mueller, M., Hobiger, S., & Jungbauer, A. (2010). Anti-inflammatory activity of extracts from fruits, herbs and spices. *Food chemistry*, 122(4), 987-996.
- Müller, F. (2005). Indicating ecosystem and landscape organisation. *Ecological Indicators*, 5, 280–294.
- Muñoz-Concha, D., Quiñones, X., Hernández, J. P., & Romero, S. (2020). Chili Pepper Landrace Survival and Family Farmers in Central Chile. *Agronomy*, 10(10), 1541.
- Odum, H. T. (1995). Self-organization and maximum empower. *Maximum power: The ideas and applications of HT Odum*, 311-330.
- Orsini, L., Brown, J. B., Shams Solari, O., Li, D., He, S., Podicheti, R., ... & De Meester, L. (2018). Early transcriptional response pathways in *Daphnia magna* are coordinated in networks of crustacean-specific genes. *Molecular ecology*, 27(4), 886-897.
- Otzen, T., & Manterola, C. (2017). Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio. *International journal of morphology*, 35(1), 227-232.
- Pérez, S., Rial, D., & Beiras, R. (2015). Acute toxicity of selected organic pollutants to saltwater (mysid *Siriella armata*) and freshwater (cladoceran *Daphnia magna*) ecotoxicological models. *Ecotoxicology*, 24, 1229-1238.

- Paitán, H. Ñ., Mejía, E. M., Ramírez, E. N., & Paucar, A. V. (2014). Metodología de la investigación cuantitativa-cualitativa y redacción de la tesis. Ediciones de la U.
- Palma, P., Palma, V. L., Fernandes, R. M., Bohn, A., Soares, A. M. V. M., & Barbosa, I. R. (2009). Embryo-toxic effects of environmental concentrations of chlorpyrifos on the crustacean *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(6), 1714-1718.
- Paris, H. S. (2001). History of the cultivar-groups of *Cucurbita pepo*. *HORTICULTURAL REVIEWS-WESTPORT THEN NEW YORK*-, 25, 71-170.
- Paris, H. S., Lebeda, A., Křitkova, E., Andres, T. C., & Nee, M. H. (2012). Parallel evolution under domestication and phenotypic differentiation of the cultivated subspecies of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Economic Botany*, 66(1), 71-90.
- Pavoni, L., Benelli, G., Maggi, F. y Bonacucina, G. (2019). Intervenciones de nanoemulsión verde para formulaciones de bioplaguicidas. En *Nano-biopesticidas hoy y perspectivas futuras* (pp. 133-160). Prensa Académica.
- Quirumbay Yagual, D. I., Castillo Yagual, C. A., & Coronel Suárez, I. A. (2022). Una revisión del aprendizaje profundo aplicado a la ciberseguridad.
- Román-Farje, A., Iannacone, J., & Alvarioño, L. (2017). Efecto tóxico del saúco, *Sambucus peruviana* (Caprifoliaceae), en *Daphnia magna*, *Sitophilus zeamais* y *Copidosoma koehleri* en Perú. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 33(1), 3-13.
- Roa Nancucheo, J. A. (2020). Evaluación de polifenoles y sus derivados modificados por hidroxipropilación, mediante el uso de bioindicadores ecotoxicológicos (*Pseudokirchneriella Subcapitata*, *Lactuca Sativa*, *Raphanus Raphanistrum Subsp. Sativus* Y *Daphnia Magna*) (Doctoral dissertation, Universidad Católica de la Santísima Concepción).
- Rodríguez Maturino, A. (2013). Capacidad antioxidante de extractos de chile chiltepín (*capsicum annum var. glabriusculum*) y su potencial en el biocontrol de *alternaria alternata* y *fusarium oxysporum*.
- Razo-Mendivil, F. G., Hernandez-Godínez, F., Hayano-Kanashiro, C., & Martínez, O. (2021). Transcriptomic analysis of a wild and a cultivated varieties of *Capsicum annum* over fruit development and ripening. *PloS one*, 16(8), e0256319.
- Rouphael, Y., Kyriacou, M. C., Petropoulos, S. A., De Pascale, S., & Colla, G. (2018). Improving vegetable quality in controlled environments. *Scientia Horticulturae*, 234, 275-289.
- Rojas, C., Orellana, R., Sotomayor, E., & Varnero, M. T. (2014) FITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS DE RESIDUOS ORGÁNICOS Y SU EFECTO SOBRE EL ÍNDICE DE GERMINACIÓN DE RABANITO Y PEPINO1 ORGANIC WASTES EXTRACT PHYTOTOXICITY AND ITS EFFECT ON GERMINATION INDEX OF.
- Rochín-Wong, C. S., Gámez-Meza, N., Montoya-Ballesteros, L. C., & Medina-Juárez, L. A. (2013). Efecto de los procesos de secado y encurtido sobre la capacidad antioxidante de los fitoquímicos del chiltepín (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*). *Revista mexicana de ingeniería química*, 12(2), 227-239.
- Rock, C.D and Quatrano, R.S. (1995). The role of hormones in seed development. *Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. 671-697, Kluwer Academic Publishers http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-0473-9_31.

- Salas, F., Marcos, C., Pérez-Ruzafa, A., & Marques, J. C. (2005). Application of the exergy index as ecological indicator of organically enrichment areas in the Mar Menor lagoon (south-eastern Spain). *Energy*, 30(13), 2505-2522.
- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., ... & Cho, W. C. (2019). Cucurbita plants: From farm to industry. *Applied Sciences*, 9(16), 3387.
- SANDOVAL, M. A. G., CALVA, M. E. M., & GUZMÁN, M. V. M. Cultivo de chile piquín (*Capsicum annum*) y evaluación de calidad postcosecha en Xicotepec de Juárez.
- Silow, E. A., & Mokry, A. V. (2010). Exergy as a tool for ecosystem health assessment. *Entropy*, 12(4), 902-925.
- Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous Animals and Toxins including tropical diseases*, 16, 402-413.
- Stan, T., Munteanu, N., Teliban, G. C., Cojocar, A., & Stoleru, V. (2021). Fertilization Management Improves the Yield and Capsaicinoid Content of Chili Peppers. *Agriculture*, 11(2), 181.
- Sobrero, M. C., & Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones*. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, 63-70.
- Tschardtke, T., Clough, Y., Wanger, T. C., Jackson, L., Motzke, I., Perfecto, I., ... & Whitbread, A. (2012). Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological conservation*, 151(1), 53-59.
- Ulanowicz, R. E., Jørgensen, S. E., & Fath, B. D. (2006). Exergy, information and aggradation: An ecosystems reconciliation. *Ecological modelling*, 198(3-4), 520-524.
- Valades-Lopez, A. (1996). Producción de hortalizas. México, Noruega, 197-212.
- Vázquez-Dávila M.A. 1996. El amash y el pistoqué: un ejemplo de la etnoecología de los chontales de Tabasco, México. *Etnoecológica* 3:59-69.
- Vázquez-Flota, F., de Lourdes Miranda-Ham, M., Monforte-González, M., Gutiérrez-Carbajal, G., Velázquez-García, C., & Nieto-Pelayo, Y. (2007). La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 353-353.
- Vázquez-Fuentes, S., Pelagio-Flores, R., López-Bucio, J., Torres-Gavilán, A., Campos-García, J., de la Cruz, H. R., & López-Bucio, J. S. (2021). N-vanillyl-octanamide represses growth of fungal phytopathogens in vitro and confers postharvest protection in tomato and avocado fruits against fungal-induced decay. *Protoplasma*, 258(4), 729-741.
- Ventura, C., Nieto, M. R. R., Bourguignon, N., Lux-Lantos, V., Rodriguez, H., Cao, G., ... & Núñez, M. (2016). Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 156, 1-9.
- Veloso, J., Prego, C., Varela, M. M., Carballeira, R., Bernal, A., Merino, F., & Díaz, J. (2014). Properties of capsaicinoids for the control of fungi and oomycetes pathogenic to pepper. *Plant Biology*, 16(1), 177-185.
- Wall, G., & Gong, M. (2001). On exergy and sustainable development—Part 1: Conditions and concepts. *Exergy, An International Journal*, 1(3), 128-145.

- Wittman, H. (2011). Food sovereignty: a new rights framework for food and nature?. *Environment and Society*, 2(1), 87-105.
- Yadav, I. C., Devi, N. L., Syed, J. H., Cheng, Z., Li, J., Zhang, G., & Jones, K. C. (2015). Current status of persistent organic pesticides residues in air, water, and soil, and their possible effect on neighboring countries: A comprehensive review of India. *Science of the Total Environment*, 511, 123-137.
- World Health Organization (WHO). Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación de 2019. Fecha de consulta: 20 de noviembre del 2022.
- Wolinski, L. I. (2019). Respuestas eco-fisiológicas de *Daphnia* frente a la radiación ultravioleta y variables ambientales.
- Zaki, N., Hakmaoui, A., Ouattmane, A., & Fernandez-Trujillo, J. P. (2013). Quality characteristics of Moroccan sweet paprika (*Capsicum annuum* L.) at different sampling times. *Food Science and Technology*, 33, 577-585.
- Zewdie, Y., & Bosland, P. W. (2000). Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. *Euphytica*, 111(3), 185-190.
- Zhang, C., Chen, Y., Xu, B., Xue, Y., & Ren, Y. (2020). Improving prediction of rare species' distribution from community data. *Scientific reports*, 10(1), 1-9.