



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGÍA

CONSERVACIÓN DE LA MARIPOSA MONARCA (*Danaus plexippus*): EVALUACIÓN Y ANÁLISIS DE SOBREVIVENCIA EN CULTIVOS DE *Asclepias* sp. EN VALLE DE BRAVO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

PRESENTA:

SIMONA FERNANDA BERNAL PICHARDO

ASESORES

DR. OCTAVIO MONROY VILCHIS

DRA. MARTHA MARIELA ZARCO GONZALEZ

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

AGOSTO, 2020

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	3
ANTECEDENTES.....	7
OBJETIVOS.....	10
HIPÓTESIS.....	10
MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
ÁREA DE ESTUDIO.....	11
OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS.....	12
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	38
REFERENCIAS.....	39

INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica actualmente presenta amenazas que provocan su disminución, incrementando la probabilidad de extinción (Ceballos *et al.* 2017). Con el fin de ofrecer soluciones, la biología de la conservación genera propuesta ante esta crisis; desde acciones preventivas o correctivas a diferentes niveles de organización biológica. La biología y relaciones específicas de cada especie ocasionan que algunas presenten mayor riesgo de extinción que otras (Monroy-Vilchis 2003).

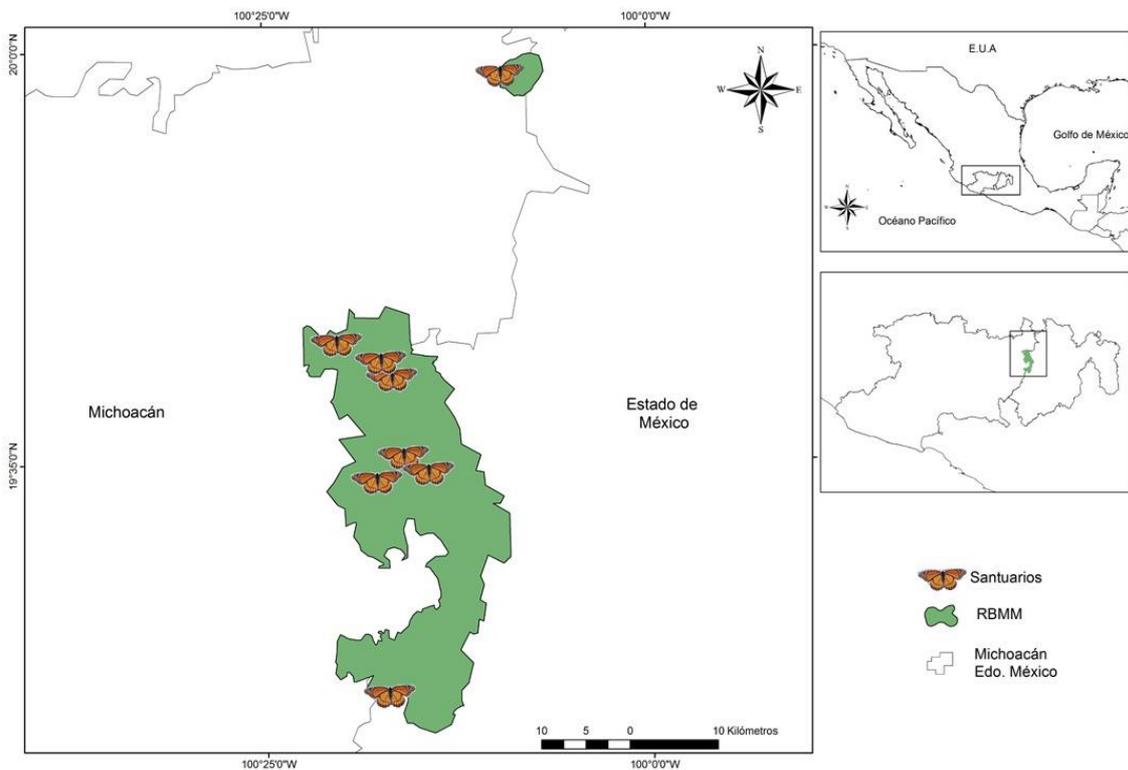
En la actualidad la entomofauna es altamente vulnerable, existe un declive a nivel mundial, principalmente en el grupo de los insectos, de manera que el 40% de las especies está en peligro de extinción, debido a la pérdida de hábitat, exposición a contaminantes, patógenos, especies invasoras y cambio climático. Los taxa más afectados son lepidópteros (53%), coleópteros (49%) e himenópteros (46%; Sánchez y Wyckhuys 2019, Wilcox *et al.* 2019). Los lepidópteros desempeñan un rol ecológico importante principalmente en la polinización, control de plagas y como bioindicadores de la calidad del ambiente, por lo que su pérdida afecta drásticamente el equilibrio del ecosistema (Mubeen 2016, Forister *et al.* 2019, Wilcox *et al.* 2019).

Las especies migratorias de lepidópteros como la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) requieren de ambientes especializados para sobrevivir, si alguno es modificado o destruido, se pone en riesgo la viabilidad de las poblaciones (Monroy-Vilchis 2003, Wilcox *et al.* 2019). En México *Danaus plexippus* se clasifica en la categoría de sujeta a protección especial, debido a que es una especie migratoria estacional, con requerimientos especializados de nicho, estrecha distribución geográfica, tamaño poblacional pequeño y en constante disminución, debido principalmente a la pérdida del hábitat (Monroy-Vilchis 2003, SEMARNAT 2010, CONANP 2010, Hermann *et al.* 2019).

La mariposa monarca es reconocida mundialmente por la migración anual que realiza desde Estados Unidos y Canadá hacia México para hibernar. Sin embargo, existen poblaciones residentes en México, que se reproducen durante todo el año, estas poblaciones se distribuyen en gran parte del territorio, incluyendo los sitios de hibernación de la población migratoria (CONANP 2010, Cuevas *et al.* 2013).

América del Norte, alberga dos poblaciones de mariposa monarca migratoria, la oriental (incluye el 90% de la población) y occidental (10% de población de mariposa migratoria; CONANP 2010). La población oriental se encuentra al este de las montañas rocosas desde el sur de Canadá y gran parte de Estados Unidos e hiberna en el centro de México; mientras tanto, la población occidental se encuentra al oeste de las montañas rocosas desde el sur de Canadá y una pequeña porción de Estados Unidos e hiberna en las costas de California (CONANP 2010, Zipkin *et al.* 2012). Durante la primavera (febrero-marzo) la mariposa monarca se reproduce en Estados Unidos, en el verano se desarrollan entre tres y cuatro generaciones, de las cuáles la última migra a los santuarios de hibernación en México (CONABIO 2008a).

Los sitios donde la mariposa hiberna de 4 a 5 meses se decretaron como Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca (RBMM), ubicada en los límites del Estado de México y Michoacán. En el Estado de México, la RBMM considera los municipios de San José del Rincón, Donato Guerra, Villa de Allende, Temascalcingo, El Oro, Villa Victoria, San Felipe del Progreso, Ixtapan del Oro, Temascaltepec, Amanalco y Valle de



Bravo (CONABIO 2008a, CONANP 2010, Cuevas *et al.* 2013, Lemoine 2015, Rendón *et al.* 2017).

Figura 1. Reserva de la Biosfera de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) ubicada entre los límites del estado de México y Michoacán.

Valle de Bravo es un sitio de hibernación importante, ya que se registra una densidad poblacional de *D. plexippus*, de entre dos y cinco millones de organismos por km², esto es favorecido por la disponibilidad de hábitat, caracterizado por bosque templado húmedo, principalmente de oyamel, a una altitud aproximada de 2200 msnm, además de cultivos de asclepias (Velázquez 2006, Soy Monarca 2008, López *et al.* 2011, Ramírez 2013).

Las asclepias (*Asclepias* spp.) son un género de plantas hospederas donde se reproduce la mariposa monarca, las hembras ovipositan exclusivamente en ellas ya que son el alimento en el estadio larval, además por el consumo de glucósidos cardíacos (Roeske *et al.* 1976, CONANP 2010). Estas son sustancias tóxicas que actúan como metabolitos secundarios provocando en larvas y mariposas coloración aposemática para la protección contra depredadores y parásitos (Roeske *et al.* 1976, Zalucki y Brower 1992). Sin embargo, la tasa de sobrevivencia en estadios inmaduros (huevo y larva) es del 10%, debido a factores bióticos como depredación por aves (*Pipilo erythrophthalmus*, *Pheucticus melanocephalus*, *Icterus parisorum*, *Icterus abeillei*, *Parus rufescens*, *Sturnus vulgaris* y *Aphelocoma coerulescens*), roedores (*Peromyscus spicilegus*, *Microtus mexicanus*, *Peromyscus melanotis*, *Peromyscus maniculatus*) y artrópodos (*Orthoptera*, *Hemiptera*, *Coleoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera*), parasitismo por protozoarios (*Ophryocystis elektroscirrha*), larvas de mosca (*Lespesia* sp.), interacciones con su propia planta hospedera (muerte de larvas por consumo de látex), factores abióticos como condiciones meteorológicas (temperaturas elevadas entre los 29°C y 31°C, temperaturas bajas entre -8°C y -4°C) y la presencia de plaguicidas (principalmente neonicotinoides, organofosforados) en las áreas de reproducción e hibernación (Brower *et al.* 1985, Oberhauser *et al.* 2001, Prisby y Oberhauser 2004, Oberhauser y Howard 2009, CONANP 2010, Brower *et al.* 2011, Nail *et al.* 2015, Stenoien *et al.* 2015, Thogmartin *et al.* 2017a, Satterfield *et al.* 2018, Pelton *et al.* 2019, Spirit 2019, Wilcox *et al.* 2019).

La generación de mariposa monarca que migra a sitios de hibernación en México tiene un ciclo de vida de siete a ocho meses. Tienen cantidades reducidas de hormonas sexuales, manteniéndose en condiciones no reproductivas (diapausa) hasta que aumenta la temperatura en los sitios de hibernación (Wilcox *et al.* 2019). La mariposa monarca residente tiene un ciclo de vida de cuatro a seis semanas y tiene el mismo desarrollo que una mariposa migratoria de 30 días en condiciones cálidas. La hembra deposita aproximadamente 400 huevos que dependen estrictamente de las asclepias (Oberhauser y Howard 2009). Las larvas emergen de cuatro a ocho días después de la puesta, se alimentan y desarrollan de nueve a 15 días. Pasan por cinco estadios larvales que difieren por el tamaño de la cabeza y la longitud de filamentos en el tórax y abdomen. El estadio de crisálida a adulto dura de ocho a 14 días (Oberhauser *et al.* 2001, Oberhauser y Howard 2009, Hunt y Tongen 2017).

Calcular la sobrevivencia de los diferentes estadios de vida es necesario para evaluar el impacto de algún factor biótico (depredadores, parásitos) o abiótico (plaguicidas, condiciones meteorológicas) en el desarrollo de las poblaciones de mariposa monarca. Existe una variedad de métodos para estimar algunos parámetros de la dinámica poblacional como la sobrevivencia. La forma común de analizar estos parámetros poblacionales en insectos es por tablas de vida y curvas de sobrevivencia, en las cuales se observan las fluctuaciones de la población a través del ciclo de vida de una especie (Baños *et al.* 2013).

Para analizar la sobrevivencia de la mariposa monarca, es necesario emplear el método actuarial, que consiste en agrupar el tiempo de sobrevivencia de un organismo en intervalos, no requiere que un organismo muera para realizar el registro, además de que la longitud del intervalo depende de la frecuencia con que ocurre el suceso de interés. Las curvas de sobrevivencia permiten describir el patrón de mortalidad al que está sujeta la mariposa monarca, identificando el estadio más vulnerable (Rebasa 2005, Arribalzaga 2007).

ANTECEDENTES

La mayoría de los estudios con mariposa monarca han sido realizados en Estados Unidos y Canadá enfocados en estadio adulto y temas específicos como migración (Tuskes y Brower 1978, Urquhart y Urquhart 1978, Rawlins y Lederhouse 1981, Gibo 1986, Oberhauser y Howard 2009, Miller *et al.* 2012, Lemoine 2015), reproducción (Calvert 1981, Herman 1981, Zalucki *et al.* 1990, Van Hook y Zalucki 1991, Di Tommaso y Losey 2003) y algunos sobre la conservación del hábitat (Pleasants y Oberhauser 2012, Vanbergen y Garratt 2013).

En México la información se centra de la misma manera el estadio adulto de la mariposa. Los estudios están dirigidos principalmente a programas de manejo para la Reserva de la Biosfera de la Mariposa Monarca (Merino y Hernández 2004, Brenner 2006), migración (Urquhart y Urquhart 1976, 1978, 1979, Calvert y Brower 1986, Ramírez *et al.* 2005), reproducción (Calvert y Brower 1986, Masters *et al.* 1988, Cuevas *et al.* 2013) y conservación (Merino y Hernández 2004, López 2007, Brenner 2009, Fajardo *et al.* 2011, García y Guzmán 2014, Islas *et al.* 2015).

Los estudios de sobrevivencia, en general, en estadios inmaduros son limitados. Se ha analizado la correlación con depredación, parásitos, temperatura, planta hospedera y plaguicidas. Se ha evaluado la sobrevivencia de mariposa monarca ante depredadores artrópodos en estadios inmaduros (huevo y larvas). Diversos órdenes de artrópodos que se alimentan de asclepias (Orthoptera, Neuroptera, Dermaptera, Hemiptera, Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Aranae u Opiliones) principalmente coleópteros las depredan, aunque no se ha determinado si se alimentan directamente de ellas o lo hacen de manera. Cualquiera que sea el caso, esta depredación influye de manera negativa en las tasas de sobrevivencia de la mariposa monarca (Zalucki y Kitching 1982, Hermann *et al.* 2019).

El parasitismo representa otra amenaza para larvas de mariposa monarca. *Lespesia archippivora* una especie de mosca, coloca sus huevos en larvas de segundo y tercer estadio de la mariposa, eclosionando en larvas de quinto estadio, provocando la muerte de larvas de mariposa monarca (Oberhauser *et al.* 2007). El protozoario *Ophryocystis elektroscirrha* afecta la sobrevivencia colocando esporas en larvas inmaduras, provocando deformaciones en el estadio adulto de la mariposa al modificar las escamas de las alas (rasgadas o perdidas) reduciendo sustancialmente el tiempo de vida (Altizer y Oberhauser 1999).

La temperatura es otro factor que amenaza la sobrevivencia de las larvas de la mariposa monarca. Un estudio evaluó la sobrevivencia obteniendo índices bajos y un desarrollo lento, en un rango de 29 °C a 31 °C (York y Oberhauser 2002, Brower *et al.* 2015). En otro estudio se analizó el desarrollo larval de mariposa monarca en un rango de temperatura de 25 °C y 30 °C, encontrando que las larvas crecen más rápido y la sobrevivencia aumenta a una temperatura de 27 °C, siempre y cuando, haya disponibilidad de agua. En tanto los rangos de temperatura de entre 29°C y 30°C disminuyen la sobrevivencia y provocan un desarrollo lento (Couture *et al.* 2015).

La cantidad de glucósidos cardíacos que ingieren al alimentarse de las hojas de plantas de asclepias resulta un factor crucial para la sobrevivencia. Un estudio evaluó la tasa de sobrevivencia de la mariposa en la especie de planta hospedera *Asclepias syriaca* (Di Tomasso y Losey 2003, Mattila y Otis 2003, Casagrande y Dacey 2007) evidenciando la preferencia de las hembras por plantas jóvenes debido a la mayor obtención de glucósidos cardíacos, incrementando su sobrevivencia (Borkin 1982, Yeargan y Allard 2005). En otra especie de planta hospedera, *Asclepias humistrata* se determinó que, a mayor consumo de glucósidos cardíacos, mayor sobrevivencia en larvas de primer estadio (Zalucki y Brower 1992, Zalucki *et al.* 2001).

Sin embargo, el principal factor que disminuye la tasa de sobrevivencia en estadios inmaduros de la mariposa monarca es el uso de plaguicidas en conjunto con la pérdida de hábitat (planta hospedera). Estudios reportan índices bajos de sobrevivencia debido al aumento de plaguicidas principalmente organofosforados y neonicotinoides durante el ciclo de vida de la mariposa monarca y la pérdida de plantas hospederas (*Asclepias* spp., *Asclepia syriaca*) en cultivos agrícolas de maíz y soya (Hartzler 2010, Pleasants y Oberhauser 2013, Flockhart *et al.* 2015; Zalucki *et al.*

2016, Thogmartin *et al.* 2017b, Zaya *et al.* 2017). Otros estudios evidencian que la siembra de cultivos de maíz transgénicos con toxinas de plaguicidas provoca baja sobrevivencia en larvas de mariposa monarca debido a la dispersión natural del polen transgénico a plantas hospedera (*Asclepia syriaca*) de *D. plexippus* (Hansen y Obrycki 2000, Stanley *et al.* 2001).

Las principales amenazas analizadas para *D. plexippus* que se han estudiado en México son la tala, urbanización y depredación en estadio adulto. El uso de plaguicidas y su efecto en la sobrevivencia en estadios inmaduros de la mariposa monarca no se ha estudiado (Calvert *et al.* 1979, Galindo *et al.* 2017, Hunt y Tongen 2017).

En Valle de Bravo, localmente se ha informado que las asclepias silvestres han disminuido por extracción para la venta como flor ornamental. Por otro lado algunos habitantes han iniciado el cultivo de la especie *Asclepias physocarpa*, nativa de África y producida en Estados Unidos. La venta de estos cultivos conlleva a la aplicación de plaguicidas carbamatos (Furadan® y Lannate®) para eliminar cualquier organismo principalmente huevos y larvas de mariposa monarca. Debido a lo anterior, es probable que la sobrevivencia de la mariposa en estadios inmaduros esté afectada.

OBJETIVOS

- Comparar la sobrevivencia de *Danaus plexippus* en estadios inmaduros (huevo, larva y crisálida) en cultivos de *Asclepias physocarpa* con plaguicida y sin plaguicida.
- Evaluar parámetros poblacionales de *D. plexippus* y su relación con características de su planta hospedera (*A. physocarpa*) y parámetros ambientales.
- Generar propuestas de manejo de *D. plexippus* para incrementar sus tasas de sobrevivencia en Valle de Bravo.

HIPÓTESIS

- *Danaus plexippus* en estadios inmaduros (huevo, larva y crisálida) tendrá tasas de sobrevivencia más altas en *Asclepias physocarpa* cultivadas sin plaguicidas que en *Asclepias physocarpa* cultivadas con plaguicida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio.

El municipio de Valle de Bravo se localiza al poniente del Estado de México en la porción suroeste de la Faja Volcánica Transmexicana. Colinda al norte con Donato Guerra, al sur con Temascaltepec, al este con Amanalco y al oeste con Ixtapan del Oro. Se encuentra a una altitud media de 2,445 msnm. Se ubica al norte con una latitud de $19^{\circ} 17' 27''$ N , al sur con una latitud de $19^{\circ} 4' 43''$ N, al occidente con una longitud de $100^{\circ} 15' 15''$ O y al oriente con una longitud de $99^{\circ} 57' 33''$ O (figura 2). La temperatura media anual de 13.7°C . La precipitación anual va de 900 a 1,300 milímetros. La vegetación dominante es bosque de oyamel, bosque de pino y bosque mesófilo de montaña (CONABIO 2008, López *et al.* 2011).

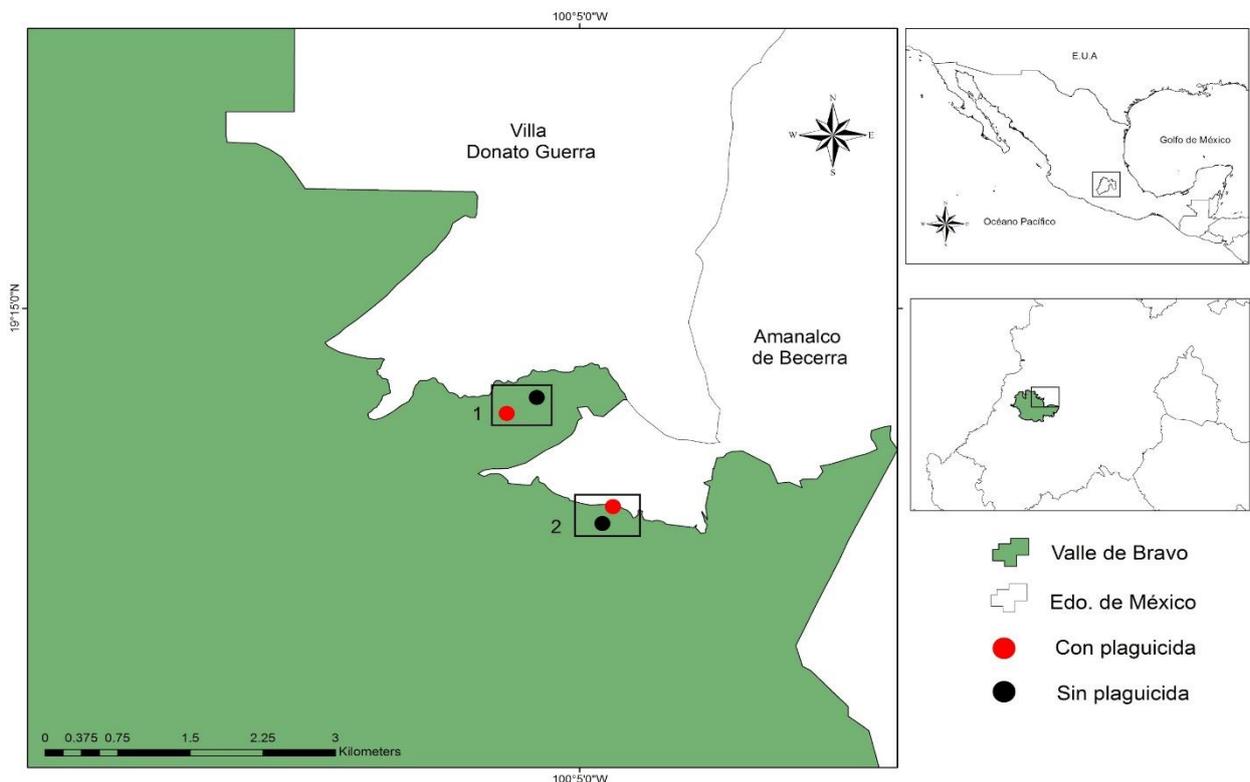


Figura 2. Municipio de Valle de Bravo, sitio de muestreo 1 y 2 con plaguicida y sin plaguicida para el análisis y evaluación de la sobrevivencia de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*).

Obtención y análisis de datos

Se cultivaron para el estudio, al aire libre, cerca de bosque de pino y oyamel, dos sitios divididos en dos tratamientos: presencia de asclepias con plaguicida (sitio 1; 19° 13' 55" N 100° 04' 45" O, sitio 2; 19° 14' 27" N 100° 05' 15" O,) y asclepias sin plaguicida (sitio 1; 19° 14' 28" N 100° 05' 14" O, sitio 2; 19° 13' 56" N 100° 04' 44" O). Los sitios y tratamientos se identificaron de la siguiente manera: sitio 1 con plaguicida (S1C), sitio 1 sin plaguicida (S1S), sitio 2 con plaguicida (S2C), sitio 2 sin plaguicida (S2S). Los sitios con plaguicida tuvieron diferentes dosis de carbamato (Furadan® y Lannate®) mediante aspersión de presión media; el sitio S1C tuvo una aplicación de 30gr/ 20l cuando había huevos, mientras el sitio S2C tuvo cuatro aplicaciones cada una de 30gr/ 20l una vez por semana, la primera aplicación cuando había huevos, la segunda aplicación cuando había larvas (I y V) y la cuarta cuando había crisálidas.

Cada sitio fue de 100m² (10 x 10m), dividido en cuatro transectos de 2.5x 10m (Bolfor *et al.* 2000). La especie de planta hospedera se determinó como *Asclepias physocarpa* mediante los siguientes criterios: ficha de identificación obtenida en *MISSION MONARCH* y consulta de base de datos electrónica *INaturalist*, la característica distintiva de la especie es el fruto, en forma esférica globosa con siete cm de diámetro color verde (Fernández *et al.* 2010, Montréal 2013, Naturalista 2018).

Se analizaron un total de 400 plantas hospederas *Asclepias physocarpa*, 100 por tratamiento. En cada tratamiento se identificaron 25 plantas al azar por transecto, registrando en cada una la presencia de huevos, larvas o crisálidas. Se etiquetó cada planta con los siguientes datos: número de planta, fecha de observación, sitio y tratamiento.

Las hojas de las plantas que presentaron huevos fueron numeradas; al eclosionar y pasar al segundo estadio larval, cada larva fue marcada con un código de pintura (vinil-acrítica, orgánica Vinimex® COMEX® color naranja, proporción 1:1 con

agua) en el tórax y abdomen para monitorear cada organismo desde huevo a crisálida. Los estadios larvales se identificaron con base al tamaño de la cabeza y la longitud de filamentos en el tórax y abdomen (Yeargan y Allard 2005, Oberhauser y Howard 2009, Mikery *et al.* 2013).

Las plantas de cada sitio, con presencia de huevos, larvas y crisálidas fueron monitoreadas cada cuatro días, durante 30 días, debido al ciclo de vida de la mariposa monarca (Oberhauser y Howard 2009). Se registró la altura de cada planta y algunas características como número de hojas y número de inflorescencias, cada dato fue registrado a la par del monitoreo de los estadios inmaduros. Se analizó si estas características se relacionan con la oviposición y si existe relación con el éxito de eclosión (larvas y mariposas) y la sobrevivencia de larvas de la mariposa monarca (Oberhauser y Howard 2009, De la Pava y Sepúlveda 2012).

Se instaló un data logger en cada sitio de muestreo para medir la temperatura y radiación solar cada dos horas. Se analizó si estos parámetros se relacionan con la oviposición, el éxito de eclosión (larvas y mariposas) y la sobrevivencia de larvas de la mariposa monarca (Urquhart 1976, Zalucki 1981).

Se evaluó por planta el éxito de eclosión de larvas y de mariposas, mediante el conteo del número de huevos y crisálidas observados al inicio y el conteo del número de larvas y mariposas eclosionadas, para determinar el porcentaje total de eclosión. Se evaluó la sobrevivencia de las larvas mediante tasas de sobrevivencia. La estimación de este parámetro poblacional en *D. plexippus* se hizo a través de tablas de vida cohorte y curvas de sobrevivencia (Romero y Cortina 2007, Quispe *et al.* 2014). Se consideraron para cada estadio los siguientes parámetros (Rabinovich 1980, Krebs 1989, Díaz 2018):

- $n_{x+1} = n_x - d_x$
- $l_x = n_x/n_0$
- $L_x = (n_x + n_{x+1}) / 2$
- $s_x = 1 - q_x$
- $d_x = (l_x - l_{x+1})$
- $q_x = d_x / n_x$

- $T_x = \sum_x L_x$

Donde:

x : Estadio

n_x : Número total de organismos observados al inicio de cada estadio

l_x : Número de organismos que sobrevive por estadio

L_x : Probabilidad de sobrevivencia entre dos estadios sucesivos

s_x : Tasa de sobrevivencia durante el estadio x a $x + 1$

d_x : Proporción de la cohorte que muere en cada estadio x a $x + 1$

q_x : Tasa de mortalidad durante el estadio x a $x + 1$

T_x : Sumatoria de la probabilidad de vida en cada estadio

Mediante las tasas de sobrevivencia obtenidas para cada estadio, se obtuvieron las curvas de sobrevivencia para determinar en qué estadio la sobrevivencia aumenta o disminuye y qué estadio es vulnerable.

Se realizaron pruebas de normalidad a cada una de las variables analizadas. Se realizaron dos pruebas de t de student, una para comparar la sobrevivencia entre sitios y otra entre tratamientos. Se realizó un análisis de Anova para identificar si hay diferencias significativas en la sobrevivencia entre estadios de *D. plexippus*.

Mediante un análisis de correlación y gráficos de dispersión se evaluó si los parámetros ambientales (temperatura y radiación solar) se relacionan con la oviposición de la mariposa monarca, el éxito de eclosión (larvas y mariposas) y la sobrevivencia de larvas de la mariposa monarca.

Mediante análisis de correlación se evaluó si las características de la planta (altura, no. de hojas y no. de inflorescencias) se relacionan con la oviposición, el éxito de eclosión (larvas y mariposas) y la sobrevivencia de larvas. A través de análisis

descriptivos (tablas de frecuencia y gráficos de Box-plot), se determinó la altura aproximada de la oviposición, éxito de eclosión (larvas y mariposas) y sobrevivencia de larvas a partir del cuartil inferior y superior. Mediante el conteo del número de huevos, número de larvas eclosionadas, número de larvas sobrevivientes, número de crisálidas y número de mariposas eclosionadas, que se encontraban por debajo y por arriba de la mediana y en los cuartiles (inferior y superior) de la variable altura, se determinó el porcentaje total de oviposición, el éxito de eclosión (larvas y mariposas) y la sobrevivencia de larvas en la altura determinada.

RESULTADOS

Sobrevivencia y *Danaus plexippus*

Todas las variables analizadas fueron normales bajo la prueba de Kolmogorov Smirnov ($P > 0.05$). Se identificaron 706 puestas de huevos de mariposa monarca en 400 plantas hospederas de *Asclepias physocarpa*. Los sitios con plaguicida presentaron menor cantidad de huevos a diferencia de los sitios sin plaguicida. El sitio S2S obtuvo la mayor cantidad de huevos (284) mientras el sitio S1C presentó menor cantidad de huevos (49; cuadro 1).

Cuadro 1. Número de huevos por tratamiento y por sitio de muestreo de *Danaus plexippus* en Valle de Bravo.

Sitios y tratamientos	Sitio 1		Sitio 2	
	Con plaguicida	Sin plaguicida	Con plaguicida	Sin plaguicida
Número de huevos	49	226	147	284

Se obtuvieron las tasas de sobrevivencia de *D. plexippus* para cada tratamiento: con plaguicida (S1C + S2C) y sin plaguicida (S1S y S2S). La sobrevivencia tiene valores de 0 a 1, donde los huevos tuvieron el valor más alto y en los siguientes estadios (larva I, larva III, larva V, crisálida) la sobrevivencia fue disminuyendo (cuadro 2).

Cuadro 2. Tasas de sobrevivencia para tratamiento con plaguicida y tratamiento sin plaguicida por estadio de *Danaus plexippus* en Valle de Bravo.

Sitios y tratamientos	Con plaguicida		Sin plaguicida	
	Sitio 1	Stio 2	Sitio 1	Sitio 2
Huevos	1	1	1	1
Larva I	0.244	0.455	0.597	0.750
Larva III	0.163	0.251	0.508	0.711
Larva V	0	0.095	0.367	0.693
Crisálida	0	0.088	0.274	0.306

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en la sobrevivencia de la mariposa monarca entre estadios por tratamiento: con plaguicida (S1C + S2C; $F = 12.81$, $g.l = 4,36$; $P < 0.0002$) y sin plaguicida (S1S + S2S; $F = 10.49$, $g.l = 4,36$; $P < 0.0000$).

Se realizó una curva de sobrevivencia a partir del promedio de las tasas de sobrevivencia entre los tratamientos con plaguicida (S1C + S2C) y sin plaguicida (S1S + S2S), se observa que los estadios más vulnerables son larva I y larva III en los tratamientos con plaguicida. En los sitios con plaguicida (S1C y 2SC) la sobrevivencia es menor que en los tratamientos sin plaguicida (S1S y S2S). La curva de sobrevivencia del tratamiento con plaguicida se comporta como una curva de sobrevivencia tipo III en el que la sobrevivencia en los primeros estadios disminuye de manera drástica, mientras en el tratamiento sin plaguicida se comporta como una curva de sobrevivencia tipo II en el que se observa una proporción similar de organismos muertos desde el inicio hasta el final del ciclo de vida (figura 3).

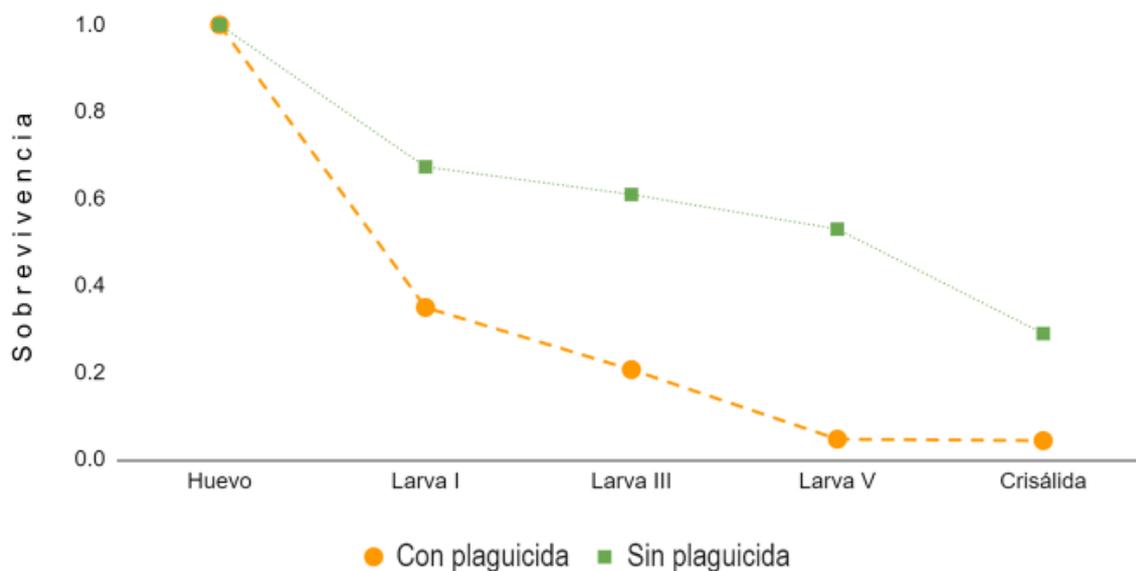


Figura 3. Promedios de la sobrevivencia por estadio entre tratamientos, con plaguicida (S1C + S2C) y sin plaguicida (S1S + S2S) de *Danaus plexippus*.

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de sobrevivencia de la mariposa monarca entre tratamientos con plaguicida (S1C + S2C) y sin plaguicida (S1S + S2S; $t= 4.208$; $g.l= 14$; $P < 0.0004$). Los resultados indican que en los sitios en los que no se aplicó plaguicida (Furadan® y Lannate®) el promedio de sobrevivencia fue mayor (0.526) que en los sitios en los que se aplicó (0.162; figura 4).

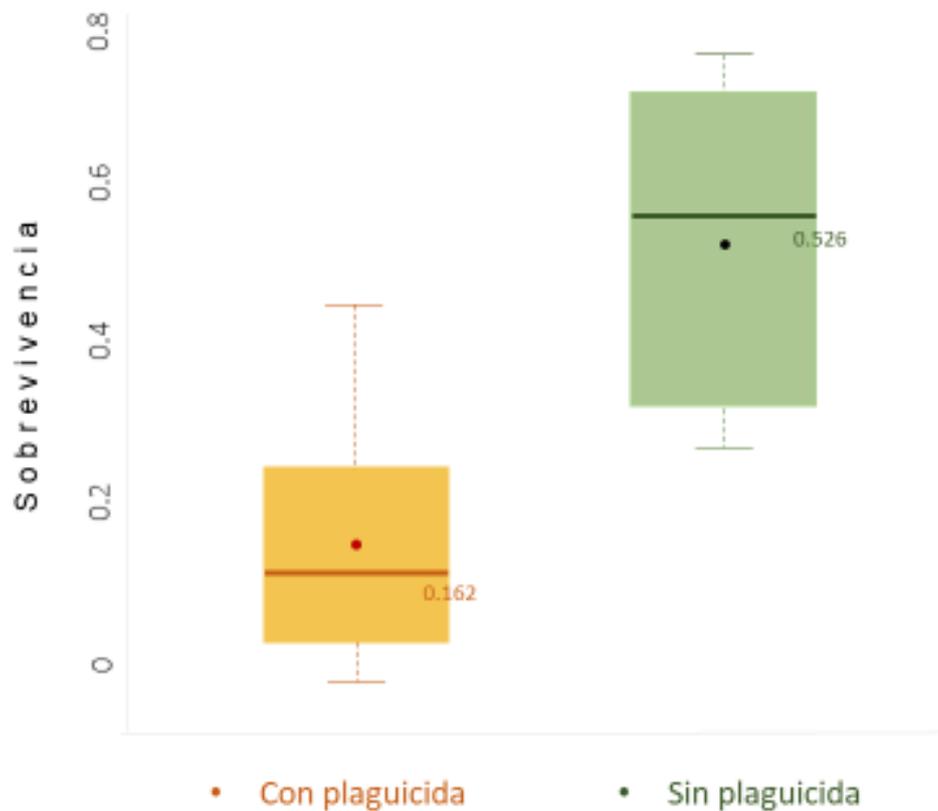
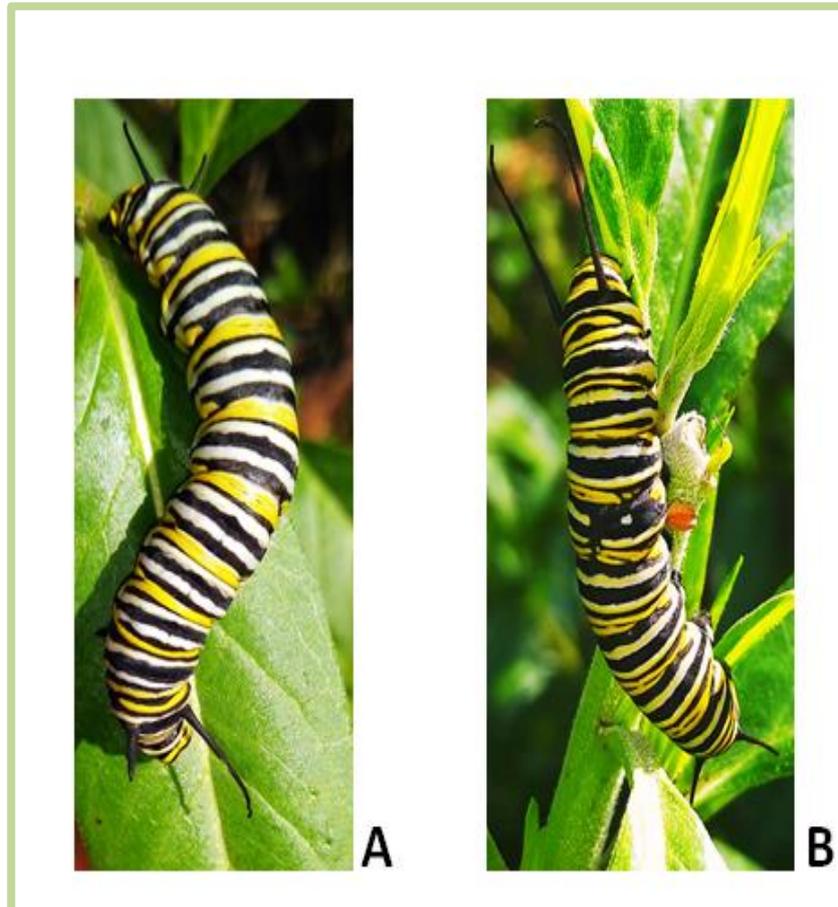


Figura 4. Gráfico Box-Plot de la sobrevivencia entre dos tratamientos, con plaguicida (S1C y S2C) y sin plaguicida (S1S y S2S) de *Danaus plexippus*.

Los sitios no influyeron en la sobrevivencia de la mariposa monarca, aunque estos se encuentran ubicados en diferentes lugares dentro del municipio, no se encontraron diferencias significativas ($t = -1.20823$; g.l. = 14; $P < 0.246972$).

En el
se aplicó
de 30
se



sitio S1C,
una dosis
gr/20 y

observaron larvas sobrevivientes en quinto estadio de *Danaus plexippus* con malformaciones como antenas incompletas (A) y mal desarrollo en la segmentación (B; figura 5).

Figura 5. Malformaciones en larvas (V) de *Danaus plexippus* en el sitio con plaguicida S1C.

Parámetros ambientales y *Danaus plexippus*

A través de análisis de correlación se evaluó si parámetros ambientales (temperatura y radiación solar) influyen en la oviposición, éxito de eclosión de larvas y mariposas y la sobrevivencia de larvas en los sitios sin plaguicida (S1S y S2S). Ambos parámetros se encuentran correlacionados con la oviposición de la mariposa monarca: temperatura ($r= 0.87841$) y radiación solar ($r= 0.98840$; cuadro 3).

Cuadro 3. Análisis de correlación entre la oviposición de *Danaus plexippus* y parámetros ambientales en los sitios sin plaguicida (S1S y S2S) en Valle de Bravo.

Análisis de correlación	Temperatura (°C)	Radiación solar (lum/ft ²)
<i>r</i>	0.80	0.98
<i>R</i> ²	75.26 %	78.14 %
Error estándar	47.69	38.83
Ecuación	OV= -1102.9 + 0.676124* T	OV= -241.123 + 0.658922 * RS

Se obtuvo una relación estadísticamente positiva entre la oviposición de *D. plexippus* con la temperatura (F= 25.54, g.l.= 1,12; *P* < 0.0005) y la oviposición con la radiación solar (F= 42.91; g.l.= 1,12; *P* < 0.0000).

No se encontró relación entre el éxito de eclosión de larvas y mariposas, así como la sobrevivencia de larvas con la temperatura (sobrevivencia de larvas, F= 0.02, g.l.= 1,12; *P* < 0.8880; éxito de eclosión de larvas, F= 0.01, g.l.= 1,12; *P* < 0.9155; éxito de eclosión de mariposas F= 4.13, g.l.= 1,12; *P* < 0.0727) ni con la radiación solar (sobrevivencia de larvas, F= 0.01, g.l.= 1,12; *P* < 0.9787; éxito de eclosión de larvas, F= 1.80, g.l.= 1,12; *P* < 0.2045; éxito de eclosión de mariposas, F= 1.14, g.l.= 1,12; *P* < 0.3141).

Los gráficos de dispersión (ajustados al modelo lineal) muestran que en un rango de temperatura de 18 °C a 19 °C (figura 6) y una radiación solar de 630 lum/ft² a 650 lum/ft² (figura 7) hubo un mayor oviposición de *D. plexippus*.

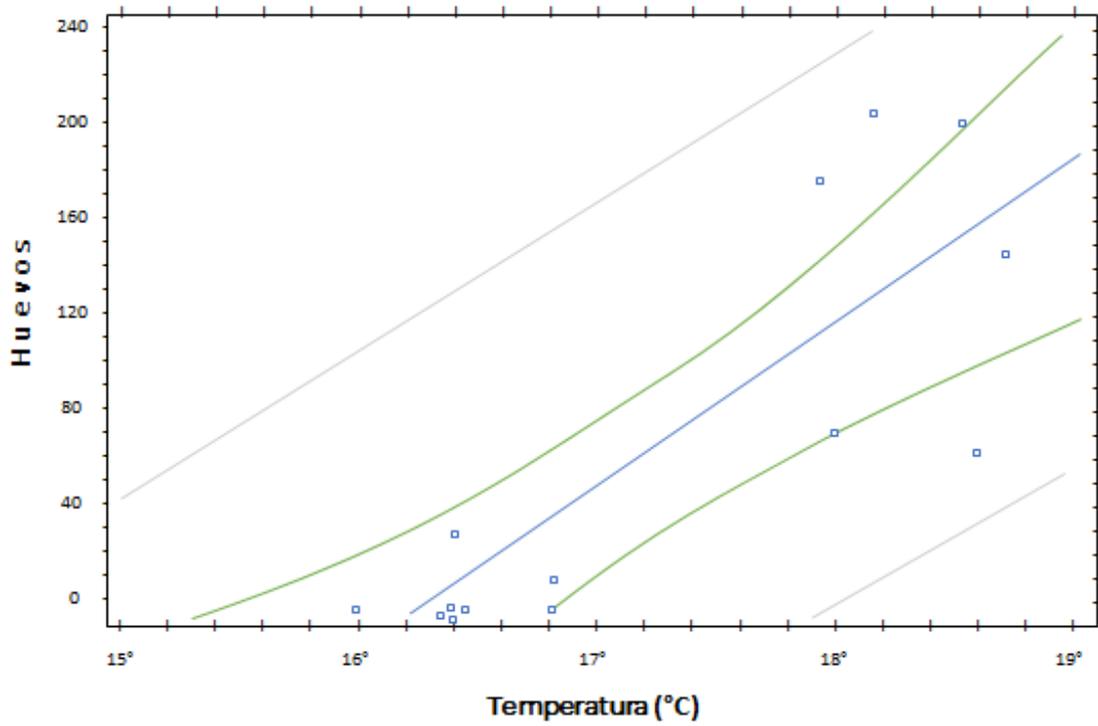


Figura 6. Dispersión ajustada el modelo lineal entre el número de puestas de huevos de *Danaus plexippus* y la temperatura en los sitios sin plaguicida (S1S y S2S).

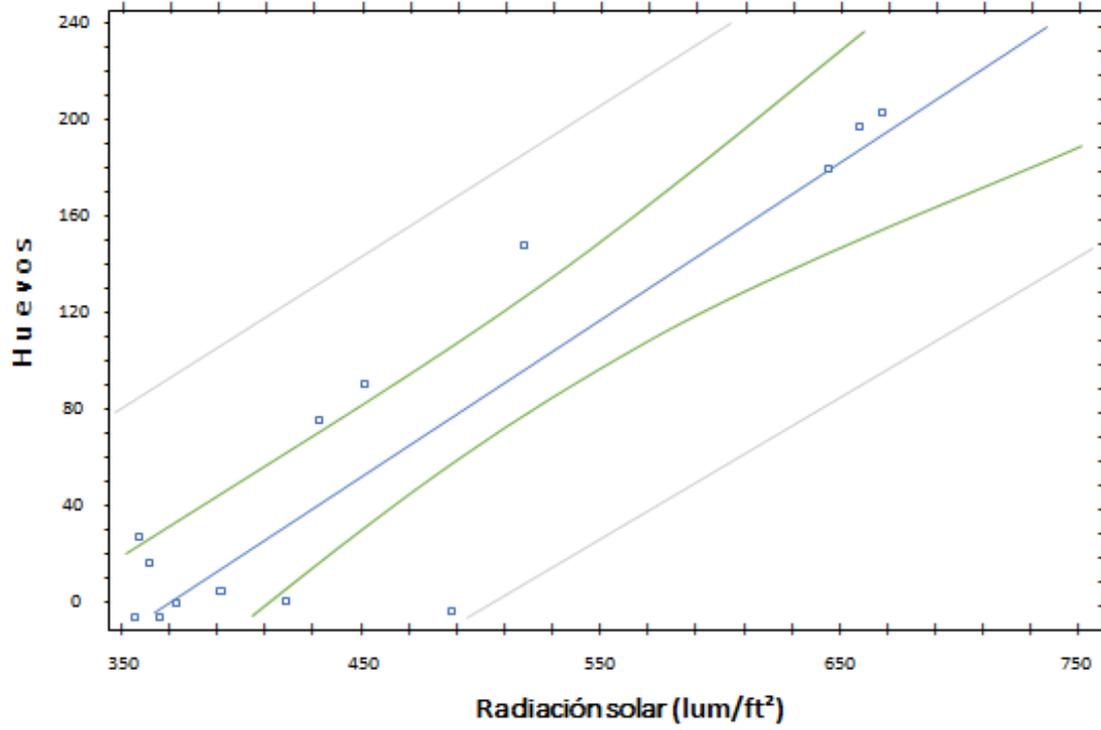


Figura 7. Dispersión ajustada el modelo lineal entre el número de puestas de huevos de *Danaus plexippus* y la radiación solar en los sitios sin plaguicida (S1S y S2S).

Características de la planta hospedera y *Danaus plexippus*

A través de análisis de correlación se evaluó si las características de las plantas (altura, número de hojas y número de inflorescencias) influyen los sitios sin plaguicida (S1S y S2S): La altura de las plantas en ambos sitios, es la variable que determina la preferencia en la oviposición ($r= 0.620206$), el éxito de eclosión de larvas ($r= 0.611217$) y mariposas ($r= 0.497057$), además, una variable que se relaciona con la sobrevivencia de larvas ($r= 0.677270$; cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de correlación entre la oviposición, éxito de eclosión (larvas y mariposas) y sobrevivencia de larvas de *Danaus plexippus* y la altura de las plantas en los sitios sin plaguicida (S1S y S2S) en Valle de Bravo.

Análisis de correlación	Estadio			
	Oviposición	Éxito de eclosión de larvas	Sobrevivencia	Éxito de eclosión de mariposas
r	0.620206	0.611217	0.497057	0.497057
R^2	40.86 %	48.49 %	37.32 %	15.75 %
Error estándar	15.56	11.20	10.80	15.32
Ecuación	OV= 0.832402 + 0.0210572* A	EEL= 0.644809 + 0.0210572* A	SL= 0.754611 + 0.0168818* A	EEM= -0.290828 + 0.0282979* A

Se obtuvo una relación estadísticamente positiva entre la oviposición de *D. plexippus* ($F= 29.70$, g.l.= 1,634; $P < 0.0000$), éxito de eclosión de larvas ($F= 23.29$, g.l.= 1,339; $P < 0.0000$), éxito de eclosión de mariposas ($F= 29.76$, g.l.= 1,160; $P < 0.0001$) y sobrevivencia de larvas ($F= 16.91$, g.l.= 1,215; $P < 0.0002$) con la altura de las plantas.

No se encontró relación entre la oviposición de *D. plexippus* ($F= 0.50$, g.l.= 1,634; $P < 0.4383$), éxito de eclosión de larvas ($F= 0.03$, g.l.= 1,252; $P < 0.8659$), éxito de eclosión de mariposas ($F= 0.34$, g.l.= 1,160; $P < 0.9907$) y sobrevivencia de larvas ($F= 0.28$, g.l.= 1,143; $P < 0.5975$) con el número de hojas, ni con el número de inflorescencias ($F= 0.44$, g.l.= 1,41; $P < 0.4924$), éxito de eclosión de larvas ($F= 01.19$, g.l.= 1,151; $P < 0.2777$), éxito de eclosión de mariposas ($F= 0.05$, g.l.= 1,160; $P < 0.8266$) y sobrevivencia de larvas ($F= 3.86$, g.l.= 1,233; $P < 0.0508$).

A través de análisis descriptivos se determinó la altura y el porcentaje total de oviposición, éxito de eclosión (larvas y mariposas) y sobrevivencia de larvas en los sitios sin plaguicida (S1S y S2S). Las hembras de mariposa monarca colocaron el 80% de sus huevos en plantas de 100 cm \pm 45.35 cm (figura 8), el éxito de eclosión de larvas en plantas de 100 cm fue de 90%. Al desarrollarse a larva III, las larvas se movían a plantas de 65 cm y 66 cm en las que aproximadamente el 75% y 77% sobrevivían. Durante el último estadio larval, las larvas V se movían a plantas de 69 cm en las que formaban la crisálida y el éxito de eclosión de mariposas fue de 80% (cuadro 5).

Cuadro 5. Medidas de variabilidad y tendencia central de la variable altura de plantas para tratamiento sin plaguicida de *Danaus plexippus* en Valle de Bravo.

Análisis de altura de plantas (cm)	Estadio				
	Huevo	Larva I	Larva III	Larva V	Crisálida
Total de plantas	674	339	261	157	175
Promedio	95.02	91.30	91.67	89.92	91.02
Mediana	81	78	79	82	81
Mínimo	11	30	32	38	47
Máximo	232	234	234	203	203
Cuartil Inferior	61	62	65	66	69
Cuartil Superior	119	107	105	102	99

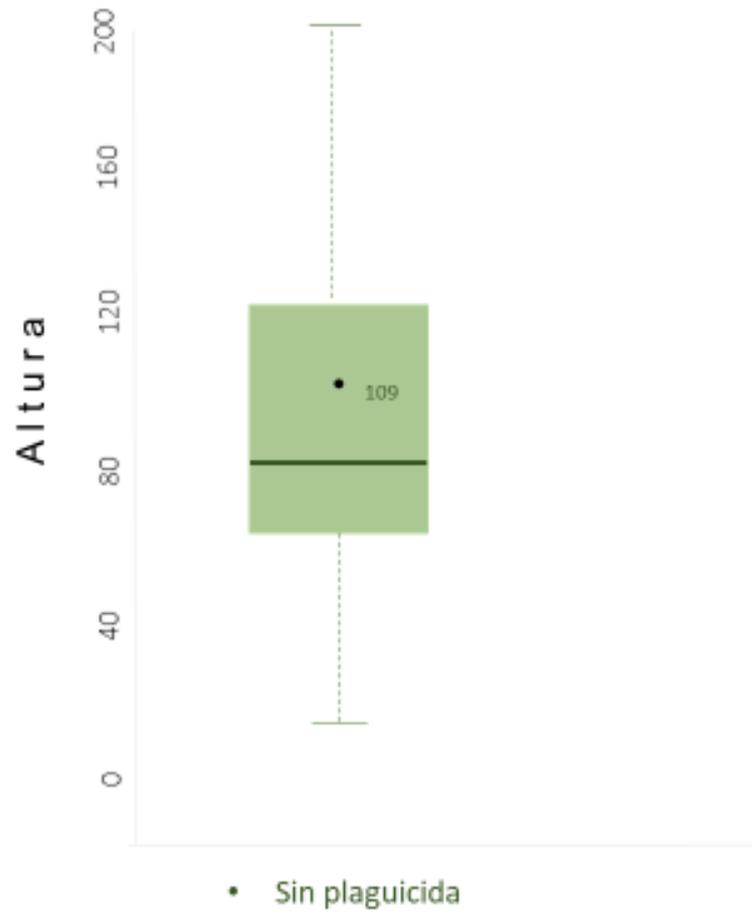


Figura 8. Gráfico Box-Plot de la altura de las asclepias en los sitios sin plaguicida (S1C y S2C) de *Danaus plexippus*.

DISCUSIÓN

Sobrevivencia y *Danaus plexippus*

En México se han realizado algunos estudios que analizan el impacto de la tala, la urbanización y depredación del estadio adulto en *D. plexippus* (Calvert *et al.* 1979, Galindo *et al.* 2017, Hunt y Tongen 2017). En este estudio se analiza el impacto del uso de plaguicidas de tipo carbamato en la sobrevivencia de la mariposa monarca en estadios inmaduros en condiciones naturales en Valle de Bravo.

Los resultados indican que en los sitios sin plaguicida hay una tasa de sobrevivencia mayor (0.526, figura 4) que en los sitios con plaguicida (0.162, figura 4) lo cual coincide con estudios anteriores que han analizado el efecto que tienen los plaguicidas pero de tipo neonicotinoide (los más estudiados). Los estudios previos demostraron que las larvas que se alimentaron de hojas de asclepias tratadas directamente con ese tipo de plaguicida o de hojas de asclepias que se encontraban cerca de cultivos principalmente agrícolas, provocó reducción del peso y longitud en larvas, además de una menor sobrevivencia entre el 20 % y 40 % en *D. plexippus* como en otras especies de mariposas *Pieris brassicae* y *Polyommatus icarus* (Krischik *et al.* 2015, Pecenka y Lundgren 2015, Belsky y Joshi 2018, Crone *et al.* 2019, Pelton *et al.* 2019, James 2019). En otros estudios midieron la concentración y diversidad de plaguicidas piretroides, organofosforados y neonicotinoides, en *Asclepias* spp. encontradas en diferentes tipos de uso de suelo como la agricultura, jardines urbanos, parques, refugios de vida silvestres y viveros. El resultado de lo anterior demostró que en la agricultura hay mayor cantidad de plaguicidas principalmente de tipo piretroides que afectan insectos que interactúan cerca de los lugares con estas sustancias incluyendo a larvas de mariposa monarca (Krishnan *et al.* Halsch *et al.* 2020). Otros estudios encontraron que plantas de asclepias que crecen en sitios alejados de cultivos agrícolas como maíz y soja, contienen diversos residuos de plaguicidas (neonicotinoides, pteroides y organofosforados). Sin embargo la cantidad y ocurrencia de sustancias varía entre sitios y tiempo, por lo que la amenaza a la sobrevivencia de la mariposa monarca depende si las aplicaciones coinciden con su reproducción y

desarrollo (Hartzler 2010, Pleasants y Oberhauser 2013, Pleasants 2017, Olaya- Arenas y Kaplan 2019, Bargar 2020).

Las curvas de sobrevivencia (figura 3) entre tratamiento con plaguicida (S1C y S2C) y sin plaguicida (S1S y S2S) difieren entre si: la curva del tratamiento con plaguicida es una curva de de tipo III (típica en poblaciones de insectos) en el que la sobrevivencia en los primeros estadios disminuye de manera drástica, debido al tipo de plaguicida usado en los sitios, el cual es aplicado de manera directa al suelo y absorbido por las raíces, transportándose por el xilema hacia las hojas que eliminan a los insectos comedores de follaje (Ferrer 2003). Por ejemplo, dos estudios realizados en Estados Unidos evidencian un comportamiento similar de la curva tipo III causado por la exposición indirecta de plaguicidas. Se sustituyeron plaguicidas por cultivos de maíz transgénicos, los cuales estaban modificados genéticamente con toxinas de plaguicidas que eliminaban plagas que se alimentaban de esta. En consecuencia, a los anterior provocó, de manera indirecta, que la sobrevivencia en larvas de mariposa monarca se afectara de manera drástica en los primeros estadios, debido a la dispersión natural del polen transgénico a las plantas hospederas de *D. plexippus* (Hansen y Obrycki 2000, Stanley *et al.* 2001). Además durante los primeros estadios larvales (larva I, larva II y larva III) las larvas de la mariposa monarca adquieren la mayor cantidad de alimento, mordiendo las hojas de su planta hospedera para aumentar en los últimos estadios larvales (larva IV y larva V) entre un 30% y 40% su talla, debido al desarrollo de la crisálida que permitirá llegar al estadio adulto, lo que explicaría el comportamiento de la curva y la vulnerabilidad de las larvas I y III en los sitios con plaguicida S1C y S2C (Fisher *et al.* 2020). La curva de sobrevivencia del tratamiento sin plaguicida se comporta como una curva tipo II en la que hay una proporción similar de organismos muertos desde el inicio hasta el final del ciclo de vida, es decir, en este tipo de curva el factor de mortalidad en todos los estadios es la depredación (figura 3, Zalucki *et al.* 2001, Ferrer 2003, Oberhauser *et al.* 2001).

En los sitios sin plaguicida S1S y 2S2 hay mayor número de huevos que en los sitios con plaguicida S1C y S2C (cuadro 1), esto probablemente se debe a los receptores sensoriales que presentan las mariposas en los apéndices. De acuerdo a estudios realizados a través de receptores quimiosensoriales tarsales, las hembras de mariposas detectan la composición química de las superficies de las hojas en cualquier

sitio que decidan ovipositar. Asimismo, responden a estimulantes alimenticios como azúcares o elementos disuasivos de la oviposición como podrían ser plaguicidas. Además, mediante feromonas epidérmicas encontradas en los apéndices o en larvas, las hembras pueden marcar a sus plantas hospederas para indicar a otras hembras de la misma especie sitios óptimos de oviposición (Schoonhoven 1990, Gabel y Thiery 1996, Aluja y Díaz- Fleischer 2006, Ramos *et al.* 2020).

En Valle de Bravo los plaguicidas comúnmente utilizados en los cultivos de asclepias (*Asclepias physocarpa*) para su venta como flor ornamental, son el Lannate® (grupo químico metomilo) y el Furadan® (grupo químico carbofuran), ambos del grupo de insecticidas carbamatos. Los carbamatos son compuestos orgánicos derivados del ácido carbámico (NH₂COOH) que inhiben la enzima acetilcolinesterasa generando una sobreestimulación de las partes del sistema nervioso que contienen acetilcolina, provocando en insectos daños en el desarrollo larval, alteraciones metabólicas y enzimáticas en dosis permisibles (0.5- 1mg/kg). Consecuencia de lo anterior, teratogénesis, mutagénesis, carcinogénesis y la muerte en dosis altas (< 5 mg/kg) lo que explicaría las tasas bajas de sobrevivencia en sitios con plaguicidas S1C y S2C a diferencia de los sitios sin plaguicida S1S y S2S (OMS 2009, Moreira *et al.* 2015, Thogmartin *et al.* 2017a, Pelton *et al.* 2019).

La toxicidad de plaguicidas carbamatos varía de acuerdo a la cantidad que se agregue y al tipo de absorción que tenga; sin embargo, son clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y por la Agencia de Protección Medio Ambiental (EPA) como plaguicidas altamente tóxicos debido a que por absorción oral, tanto el metomilo en dosis de 17 DL₅₀ mg/kg y el carbofuran en dosis de 8 DL₅₀ mg/kg, eliminan al 50% de la población de insectos en los sitios que se aplique (EPA 2001, FAO 2001, OMS 2009, Moreira *et al.* 2015).

La dosis de plaguicida carbamato aprobada por la OMS es de 0.5 a 1 mg/kg, 3 aplicaciones durante la temporada de los cultivos, considerando un espaciamiento de 30 a 45 días entre aplicaciones. Sin embargo, en los sitios con plaguicida S1C y S2C la dosis aplicada fue mayor a lo establecido por la OMS (OMS 2009, Varona *et al.* 2009, Pleasants y Oberhauser 2013, cuadro 2), lo que provocó que en los sitios con plaguicida las tasas de sobrevivencia fueran más bajas. En el sitio con plaguicida S1C la

tasa de sobrevivencia fue menor que en el sitio con plaguicida S2C (cuadro 2), debido a que en el sitio S1C se aplicó dicha sustancia 4 ocasiones, una vez por semana en una cantidad de 30 gr/20 L. La primera aplicación se hizo cuando en las plantas de asclepias había huevos, la segunda y tercera aplicación cuando había larvas (I y V), y la cuarta aplicación cuando había crisálidas. Mientras en el sitio S2C se aplicó dicha sustancia 1 sola ocasión en la misma cantidad, cuando en las asclepias había huevos, esto provocó que algunos organismos pudieran sobrevivir por un tiempo (cuadro 2).

Las larvas que lograron sobrevivir presentaron malformaciones como: desarrollo incompleto de antenas y segmentos (figura 5). De acuerdo con un estudio en mariposas de la familia *Papilio*, lo anterior puede ser provocado porque los plaguicidas Carbamatos en dosis permisibles de 1 mg/L o < 1 mg/L, provocan en larvas deformaciones como: cutícula delgada de color marrón y mal desarrollo entre segmentos, pudiendo sobrevivir al estadio adulto. Al llegar a este último estadio las mariposas que presentan malformaciones en larvas, desarrollan las alas arrugadas y apéndices locomotores incompletos o ausentes provocando que sean más susceptibles a los depredadores (Bhattacharyya *et al.* 2015). Estas diferencias en la sobrevivencia entre sitios 1 y 2 con el mismo tratamiento, evidencia que el uso de plaguicidas en concentraciones permisibles o más altas provoca tasas bajas en la sobrevivencia de la mariposa monarca.

En los sitios sin plaguicida S1S y S2S existen algunos organismos con tasas de sobrevivencia bajas y esto puede deberse a interacciones biológicas que fueron observadas en el lugar, como la depredación por chinches de la especie *Padaeus trivittatus* que se alimentan de larvas de mariposa monarca directamente o accidentalmente, consumiendo huevos y larvas al alimentarse de las hojas de asclepias (Haan y Landis 2019). Además, por interacciones de competencia por la especie de polilla *Euchaetes egle* y la especie de áfido *Aphis nerii* que tiene la misma especificidad que *D. plexippus* al género *Asclepias* alimentándose del follaje en estadio larval (figura 4, Haan y Landis 2019, Herman *et al.* 2019).

La mayoría de los plaguicidas incluyendo los carbamatos, no afectan la sobrevivencia del organismo que se desea eliminar de manera exclusiva, como ocurre con las plagas o en este caso con la mariposa monarca, también afecta a organismos que se encuentren interactuando en los sitios donde estas sustancias se aplican, como

se observó en los sitios con plaguicida S1C y S2C debido a la alta toxicidad aún en dosis bajas o permisibles (EPA 2001, FAO 2001, OMS 2009, Moreira et al. 2015). Estos plaguicidas además, provocan contaminación ambiental, dada principalmente por la aplicación y uso excesivo en cultivos agrícolas, filtraciones en los depósitos, filtraciones de residuos, derrames accidentales entre otros. Los restos de plaguicidas se dispersan en el ambiente y perjudican a más elementos del ecosistema como: bióticos (animales y plantas) y abióticos (suelo, aire y agua) que con el tiempo se convierten en un peligro de salud pública humana (SEMARNAT y CONANP 2018, Crone *et al.* 2019, James 2019).

En Valle de Bravo el uso de plaguicidas se ha convertido en una constante aproximadamente desde hace unos 10 años hasta el momento, debido al uso de estas sustancias en cultivos que sostienen gran parte de su economía. Cultivos de flores como asclepias (*Asclepias physocarpa*), girasoles (*Helianthus annuus*), ave del paraíso (*Strelitzia reginae*), casa blanca (*Lilium candidum*), flor de calabaza (*Curcubita pepo*), cultivos de frutas y verduras como aguacate (*Persea americana*), lechuga (*Lactuca sativa*), cilantro (*Coriandrum*) rabano (*Rhaphanus sativus*) y semillas como maíz (*Zea mays*), frijol (*Phaseolus vulgaris*) y haba (*Vicia faba*) presentan plagas de insectos, aves e inclusive mamíferos que se alimentan de ellos, razón por la cual los lugareños aplican plaguicidas.

Este uso constante y probablemente indiscriminado de plaguicidas generará graves problemas además de los ambientales. En humanos tienen efectos agudos y crónicos en la salud manifestándose en diferentes formas de acuerdo a las dosis y tipo de exposición: a) toxicidad aguda, se debe a la ingestión de cualquier plaguicida en una ocasión en dosis de DL_{50} , b) toxicidad dérmica, se debe al contacto en la piel con el plaguicida con dosis por arriba de las DL_{50} presentando mayor riesgo la persona que lo manipula, c) toxicidad por inhalación, se debe al respirar en cualquier lugar con plaguicida por nebulización, rociamiento y atomización por diferentes vías de exposición: respiratoria, digestiva y dérmica. La exposición a plaguicidas puede ser directa (personas en industrias que los fabrican o agricultores que los aplican) o indirecta (consumidores o personas cercanas a lugares donde son aplicados ocasionando en cualquiera de las formas daños graves (Del Puerto *et al.* 2014, Avinash *et al.* 2015, SEMARNAT Y CONANP 2018).

Parámetros ambientales y *Danaus plexippus*

En Australia y Estados Unidos se han investigado diversas variables que influyen en la oviposición de la mariposa monarca, parámetros ambientales como: temperatura, precipitación, humedad y características de las plantas de asclepias como: especies, densidad, número de hojas, masa foliar, altura, tiempo de vida entre otras, con la finalidad de mejorar e incrementar los sitios de reproducción de la mariposa monarca. En México se han realizado estudios sobre parámetros ambientales en los santuarios de hibernación como temperatura, precipitación y humedad, con la finalidad de determinar las condiciones óptimas en los santuarios y explicar cómo el cambio climático influye en la sobrevivencia de *D.plexippus* (Mejia y Arellano 1992, Larsen y Lee 1994, Anderson y Brower 1996). Sin embargo, no hay información sobre características que influyen en la oviposición como temperatura, radiación solar, altura de las plantas, número de hojas y número de inflorescencias. Los resultados de este trabajo indican que los parámetros ambientales (temperatura y radiación solar) influyen en el número de puestas de la mariposa monarca (cuadro 3). Se puede observar que existe un patrón en el que conforme la temperatura y radiación solar van aumentado (figura 6 y 7) el número de puestas también se incrementa, lo cual coincide con lo reportado por otros autores (Urquhart 1976, Zalucki 1981).

En un rango de temperatura de 18 °C a 19 °C el número de puestas de huevos es mayor (72, 84, 204, 195, 141, 165) que en temperaturas por debajo de ese rango (24, 29, 8, 9, 1, figura 6 y 7). De acuerdo a otros estudios el rango de temperatura óptimo para la oviposición y desarrollo completo de *D.plexippus* se encuentra de los 27 °C a 29 °C, por lo que temperatura por debajo de los 20 °C provoca menor puestas y maduración de huevos. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio el rango se encuentra por debajo de la temperatura óptima reportada. Sin embargo, un estudio sugiere la adaptación de la mariposa monarca a variaciones de temperatura, precipitación y humedad en los trópicos, debido a la migración que realiza a los santuarios de México (Urquhart 1960, Barker y Herman 1976, Zalucki 1981, York y Oberhauser 2002).

Considerando que la temperatura media anual en los sitios de hibernación y sus alrededores oscila entre los 8 °C a 22 °C, el rango reportado en este estudio podría considerarse óptimo para la oviposición en México, sin embargo, sería conveniente tener más repeticiones para verificar el rango de temperatura obtenido. No existe evidencia sobre la relación entre radiación solar y oviposición o desarrollo de larvas; sin embargo, al existir una relación entre ambas variables puede inferirse que la radiación solar óptima para la oviposición se encuentra en un rango de 630 lum/ft² a 650 lum/ft² (figura 7). Además, a partir de los 16 °C (figura 6) con una radiación de 350 lum/ft² la hembra de mariposa monarca comienza a ovipositar, lo que podría indicar una tolerancia a rangos de temperatura más bajos, no menores de 15 °C. De acuerdo con lo reportado la consecuencia de temperaturas extremadamente bajas, es el sobre enfriamiento y congelamiento de la mariposa monarca, reduciendo su capacidad de vuelo, maduración, reproducción, oviposición y altas tasas de mortalidad (Oberhauser y Peterson 2003, Batalden *et al.* 2007).

Características de la planta hospedera y *Danaus plexippus*

Además de los parámetros ambientales también las características de las plantas de asclepias pueden influir en la oviposición de la mariposa monarca, como lo sugieren los resultados obtenidos en este estudio, en los que se observa que la altura es una variable de la cual depende la oviposición, debido a que las hembras de mariposa monarca colocaron el 80% de sus huevos en plantas con altura de 100 cm \pm 45.35 cm, de los cuales el éxito de eclosión fue de 90% (figura 8 y cuadro 5). En un estudio, realizado en Australia, se analizó la especie de *Asclepias physocarpa* versus las variables de edad y altura, estableciendo que las plantas jóvenes tenían en promedio una altura de 16 cm a 17 cm, las plantas viejas de 180 cm a 700 cm, estableciendo una edad media con una altura de 54 cm a 100 cm es decir, plantas no tan jóvenes y no tan viejas, encontrando que en estas últimas había alto número de puestas huevos debido que al no ser plantas viejas la cantidad de glucósidos cardíacos es mayor. Esta cantidad de glucósidos parece provocar que las interacciones entre especies por competencia o depredación sean reducidas, además, al ser más altas que las jóvenes evitan la humedad concentrada en el suelo evitando el congelamiento que provoca maduración, desarrollo lento y tasas bajas de sobrevivencia lo que explicaría el 80% de los huevos en plantas de 100 cm \pm 45.35 cm (Zalucki y Kitching 1982, 2009, Pitman *et al.* 2018, Haan y Landis 2019). Esto explicaría también porque las larvas III que se encontraban en plantas por arriba de 120- 150 cm, se movían a plantas de 65 cm a 66 cm en las que aproximadamente el 77% de larvas sobrevivían. Las larvas V también se movían a plantas de 69 cm en las que formaban la crisálida y el éxito de eclosión de mariposas era de 80% (cuadro 5).

Propuestas de manejo para *Danaus plexippus* en Valle de Bravo

La recuperación y conservación de *D. plexippus* depende en gran medida de dos factores que se proponen a continuación: 1) recuperar los lugares de reproducción e hibernación, 2) reducir el uso de plaguicidas. El análisis realizado en este estudio sugiere la intervención inmediata para mitigar el uso de plaguicidas en Valle de Bravo y de manera general en los santuarios de la mariposa monarca y lugares cercanos en México.

- 1) **Políticas.** El Plan de América del Norte para la Conservación de la mariposa monarca (PANCM) en conjunto con la Comisión para la Cooperación Ambiental (CCA) genera propuestas de manera cooperativa entre Canadá, Estados Unidos y México para conservar a la mariposa monarca y su fenómeno migratorio. En México este plan se centra en planes y acciones para conservar los sitios de hibernación, evitando la tala, el cambio en uso de suelo e incendios en la RBMM. Sin embargo, con los resultados obtenidos en este estudio es importante establecer en el plan la importancia de mantener e incrementar los sitios de reproducción libres de plaguicidas, para aumentar las tasas de sobrevivencia en las poblaciones residentes y poblaciones migratorias de mariposa monarca (Brenner 2009, CONANP 2010, SEMARNAT Y CONANP 2018).
- 2) **Sitios con asclepias nativas.** Alentar a agricultores y propietarios de tierras a implementar acciones para proteger, mejorar y restaurar los sitios de reproducción de la mariposa monarca ya establecidos. Aumentar y mantener los sitios de reproducción es la principal acción, sembrar sitios con *Asclepias* spp. a partir de semillas o esquejes de raíces sin plaguicidas, en tierras de cultivo, bordes de carretera, áreas agrícolas y jardines urbanos libres de plaguicidas. Así mismo generar una propagación de plantas de asclepias nativas ya que introducir especies como ocurre con *Asclepias physocarpa* nativa de África y producida en Estados Unidos, provoca daños graves como: invasión en los ecosistemas, reemplazo de especies endémicas de asclepias y transmisión de parásitos a la mariposa monarca (Thogmartin *et al.* 2017b, CONANP 2018).
- 3) **Reducción de plaguicidas.** Se debe reducir y eliminar el uso de plaguicidas en los santuarios y lugares cercanos a sitios con asclepias. De acuerdo con este estudio y lo reportado por otros autores es necesario dejar de usar plaguicidas altamente tóxicos como los neonicotinoides, piretroides, glifosatos y carbamatos debido a que en dosis bajas o controladas causan tasas de sobrevivencia bajas. Se debe reducir la dependencia a los plaguicidas, utilizar técnicas de manipulación como el control biológico, plaguicidas orgánicos minimizando los riesgos a los organismos no objetivo como ocurre con la

mariposa monarca, además de los riesgos a la salud humana (SEMARNAT Y CONANP 2018, Crone *et al.* 2019, James 2019).

- 4) **Educación ambiental.** Se deben realizar campañas para la divulgación de información clara y general, que contenga detalles sobre la biología e importancia de la conservación de la mariposa monarca residente y migratoria en México, además de los riesgos que conlleva el uso de plaguicidas para el medio ambiente y la salud pública. Se debe generar un plan de manejo para los sitios de reproducción que incluye el manejo de asclepias nativas sin uso de plaguicidas y alternativas para sustituir los plaguicidas altamente tóxicos (Epstein y Bassein 2003, SEMARNAT Y CONANP 2018, Crone *et al.* 2019).

CONCLUSIONES

- El uso de plaguicidas de tipo Carbamato (Furadan® y Lannate®) en cultivos de *A. physocarpa*, reduce la sobrevivencia de *D. plexippus* hasta un 50%, los estadios más vulnerables son los que corresponden a inmaduros (larva I y larva III).
- La mayor puesta de huevos ocurre en un rango de temperatura de 18 °C a 19 °C y un rango de radiación de 350 lum/ft² a 650 lum/ft². Estos datos son un aporte nuevo para la reproducción de mariposa monarca en México. Las hembras de *D. plexippus* ovipositaron el 80% de sus huevos en plantas de hasta 100 cm con un éxito de eclosión de 80%, las larvas III se movían a plantas de 65 cm y 66 cm con una sobrevivencia de 77%, mientras que las larvas V se movían a plantas de 69 cm en las que formaban la crisálida y el éxito de eclosión de mariposas era de un 80%.
- El análisis anterior sugiere la intervención inmediata para mitigar el uso de plaguicidas en los sitios de reproducción de *D. plexippus*. Es necesario agregar políticas en el *Plan de América del Norte para la conservación de la Mariposa Monarca*, incrementar y mantener sitios con asclepias, sustituir las especies invasoras como *Asclepias physocarpa* por especies nativas, la reducción y eliminación de plaguicidas, para utilizar técnicas en pro de la conservación de la mariposa monarca e implementar la educación ambiental que incluya la ciencia comunitaria y planes de manejo para los sitios de reproducción.

REFERENCIAS

- Altizer S.M. y Oberhauser K.S. 1999. Effects of the Protozoan Parasite *Ophryocystis elektroscirrha* on the Fitness of Monarch Butterflies (*Danaus plexippus*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 74(1): 76–88.
- Aluja M. y Díaz- Fleischer F. 2006. Foraging Behavior of *Anastrepha Ludens*, *A. obliqua* and *A. serpentina* in Response to Feces Extracts Containing Host Marking Pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, 32(2): 367–389.
- Anderson J.B y Brower L.P. 1996. Freeze-protection of overwintering monarch butterflies in Mexico: critical role of the forest as a blanket and an umbrella. *Ecological Entomology*, 21(107): 1-16.
- Arribazalga E.D. 2007. Interpretación de las curvas de supervivencia. *Revista Chilena de Cirugía*, 59(1): 75-83.
- Avinash S. Panjakumar K. Shridhar J. Maka A. Ravichandran B. 2015. Assessment of hematological, biochemical effects and genotoxicity among pesticide sprayers in grape garden. *J Occup Med Toxicol*, 10 (11): 1-19.
- Baños- Díaz H.L. Miranda I. y Martínez M. 2013. Biología y tabla de vida de *Tamarixia radiata* Waterston bajo condiciones controladas. *Revista de Protección Vegetal*, 28(2): 120-126.
- Batalden R. Oberhauser K.A. Peterson T. 2007. Ecological Niches in Sequential Generations of Eastern North American Monarch Butterflies (Lepidoptera: Danaidae): The Ecology of Migration and Likely Climate Change Implications. *Environmental Entomology*, 36(6): 1365–1373.
- Bargar T.A. Hladik M.L. Daniels J.C. 2020. Uptake and toxicity of clothianidin to monarch butterflies from milkweed consumption. *PeerJ- Life & Environment*, 10(8).

- Barker J.F. y Herman W.S. 1976. Effect of photoperiod and temperature on reproduction of the monarch butterfly, *Danaus plexippus*. *Journal of Insect*, 22: 1565-1568.
- Barve N. Bonilla A.J. Brandes J. Brown C. Brunsell N. Ferdouz V. Crosthwait R. Gentry J. Gerhart L.M. Jackson T. Kern A.J. Oberhauser K.S. Owens H.L. Townsend A. Reed A.S. Soberón J. Sungberg A. Williams L.M. 2012. Climate change and mass mortality events in overwintering monarch butterflies. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(3): 817-824.
- Belsky J. y Joshi N.K. 2018. Assessing Role of Major Drivers in Recent Decline of Monarch Butterfly Population in North America. *Frontiers in Environmental Science*, 6: 1-7.
- Bhattacharyya S. Ghosh S. Chaudhuri P. Jeelani S. (2015). Impact of Carbaryl Insecticides on An Urban Pollinator: An Invitro Study on Metamorphosis of *Papilio demoleus* (L.) Larvae. *International Journal of Research in BioSciences*, 4 (2): 44-50.
- Brenner L. 2006. Áreas naturales protegidas y ecoturismo: el caso de la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca México Relaciones. *Estudios de historia y sociedad*, 27(105): 237-265.
- Brenner L. 2009. Aceptación de políticas de conservación ambiental: el caso de la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca. *Economía, sociedad y territorio*, 9(30): 259-295.
- Brower L.P. 1988, Avian Predation on the Monarch Butterfly and Its Implications for Mimicry Theory. *The American Naturalist*, 1(131): 54- 56.
- Brower L.P. Fink L.S. Kiphart R.J. Pocius V. Zubieta R.R. y Ramírez M.I. 2015. Effect of the 2010-2011 drought on the lipid content of monarchs migrating through Texas to overwintering sites in Mexico, in *Monarchs in a Changing World: Biology and Conservation of an Iconic Butterfly*. Eds KS Oberhauserer, KR Nail y S. Altizer. Ithaca, NY: Cornell University Press.12 pp.
- Brower L.P. Horner B. Marty M. Moffitt C. y Bernardo V. 1985. Mice (*Peromyscus maniculatus*, *P. spicilegus*, and *Microtus mexicanus*) as Predators of Overwintering Monarch Butterflies (*Danaus plexippus*) in Mexico. *Biotropica*, 17(2): 89-99.

- Brower L.P Taylor O.R. Williams E.H. Slayback D.A. Zubieta R.A. Ramírez M.I. 2011. Decline of monarch butterflies overwintering in Mexico: is the migratory phenomenon at risk?. *Insect Conserv Diver*, 5(2): 95–100.
- Bolfor M. Fredericksen B. Todd S. 2000. Manual de métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. Santa Cruz, Bolivia, 8-20.
- Borkin S.S. 1982. Notes on Shifting Distribution Patterns and Survival of Immature *Danaus Plexippus* (Lepidoptera: Danaidae) on the Food Plant *Asclepias Syriaca*. *Journal The Great Lakes Entomologist*, 15(3): 199-206.
- Calvert W. H. Hedrick L.E. y Brower L. P. 1979. Mortality of the Monarch Butterfly (*Danaus plexippus* L.): Avian Predation at Five Overwintering Sites in Mexico. *Science*, 204(4395): 847–851.
- Calvert W.H. y Brower L.P. 1986. The location of monarch butterfly (*Danaus plexippus*) overwintering colonies in Mexico in relation to topography and climate. *Journal of the lepidopterists Society*, 40 (03): 164-167.
- Casagrande R.A. y Dacey J.E. 2007. Monarch butterfly oviposition on swallow-worts (*Vincetoxicum* spp.). *Journal Enviromental Entomology*, 36(3): 631–636.
- Ceballos G. Ehrlich R. Dirzo. 2017. Biological annihilation via the ongoing sixth mass extinction signaled by vertebrate population losses and declines, 114(30): 2-8.
- CONABIO 2008a. Los santuarios: sitios de hibernación. (Consultado: 28 Abril 2019, <http://www.soymonarca.mx/santuarios.html>).
- CONABIO 2008b. Monitoreo de ecosistemas: Caso Valle de Bravo. (Consultado: 5 Mayo 2019, http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/cambios_veg/doctos/tipos_valle.html).
- CONANP. 2010. Monitoreo de las colonias de hibernación de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) en la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (Consultado: 2 Abril 2019, <http://www.conanp.gob.mx/acciones/fichas/mariposa/info/info.pdf>).
- Couture J.J. Serbin S.P. y Townsend P.A. 2015. Elevated temperature and periodic water stress alter growth and quality of common milkweed (*Asclepias*

- syriaca*) and monarch (*Danaus plexippus*) larval performance. *Arthropod. Plant Interaction*, 9 (2): 149–161.
- Crone E.E. Pelton E.M. Brown L.M. Thomas C.C.y Schultz C.B. (2019). Why are monarch butterfly populations declining in western North America? *Ecological Applications*, 29 (7): 1-18.
 - Cuevas M. Rodríguez X. Romero C.A. y Romero J.M. 2013. Reproducción de *Danaus plexippus* L. residente (Lepidoptera: Nymphalidae: Danainae) bajo condiciones de laboratorio. *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa*, 53: 299–309.
 - De La Pava S. y Sepúlveda C.P. 2012. Aspectos del desarrollo de *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Nymphalidae) sobre *calotropis procera* (apocynaceae) bajo condiciones de laboratorio. *Boletín Científico de Historia Natural*, 16(1): 266-272.
 - Del Puerto R.A. Suárez T.S Palacio E.D. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3): 372-387.
 - Di Tommaso A. y Losey J.E. 2003. Oviposition preference and larval performance of monarch butterflies (*Danaus plexippus*) on two invasive swallow-wort species. *Journal Entomologia Experimentalis*, 108(3): 205-209.
 - Díaz F.J. 2018. Introducción a los estudios de cohorte en epidemiología y al análisis de supervivencia, 8(1): 43-53.
 - Environmental Protection Agency (EPA) 2001. Revaluación de plaguicidas. (Consultado: 04 marzo 2020, https://search.epa.gov/epasearch/?querytext=pesticides&areaname=&areacontacts=&areasearchurl=&typeofsearch=epa&result_template=2col.ftl#/).
 - Epstein L. y Bassein S. 2003. Patterns of pesticides use in california and the implications for strategies for reduction of pesticides. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1): 351–375.
 - Fajardo I. Rojas A. y Ortega S. 2011. El turismo alternativo como estrategia de conservación de la reserva de la biosfera de la mariposa monarca (2008-2010). *Journal Quivera*, 13 (2): 115- 133.

- Fernández H.J. Jordano B.D. León M.M y Devesa J.A. 2010. *Gomphocarpus R. Br.* (Apocynaceae subfam. Asclepiadoideae) en Andalucía Occidental. *Lagascalia*, 30: 39-46.
- Ferrer A. 2003. Intoxicación por plaguicidas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(1): 155-171.
- Fisher K.E. Hellmich R.L y Bradbury S.P. 2020. Estimates of the use of common milkweed (*Asclepias syriaca*) by monarch (*Danaus plexippus*) larvae and the importance of larval movement. *J Insect Conserv*, 24: 297–307.
- Food and Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). 2001. Base de datos en línea del Codex Alimentarius. Límites máximos de residuos. (Consultado: 04 marzo 2020, http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticide-detail/es/?p_id=94).
- Flockhart D.T. Pichancourt J.B. Norris D.R. y Martin T.G. 2015. Unravelling the annual cycle in a migratory animal: breeding-season habitat loss drives population declines of monarch butterflies. *Journal Animal Ecology*. 84 (1): 155–165.
- Forister M.L. Pelton E.M y Black S.H. 2019. Declines in insect abundance and diversity: We know enough to act now. *Conservation Science and Practice*, 1 (8): 1-8.
- Gabel B. y Thiery D. 1996. Oviposition response of *Lobesia botrana* females to long chain free fatty acids and esters from its eggs. *Journal of Chemical Ecology*, 22: 161–171.
- Galindo C. Rendón E. y Martínez A. 2017. Diagnóstico del estado de conservación del corredor migratorio de la mariposa monarca en América del Norte. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (Consultado: 23 Mayo 2019, https://www.soymonarca.mx/_pdf/diagnostico_migracion_monarca.pdf)
- García F. y Guzmán A. 2014. Conservando la mariposa monarca (*Danaus plexippus*), conservando enemigos naturales de plagas. (Consultado: 22 Mayo 2019, <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v20n3/v20n3a9.pdf>)

- Gibo D. 1986. Flight Strategies of Migrating Monarch Butterflies (*Danaus plexippus* L.) in Southern Ontario. En: Danthanarayana W. (eds) Insect Flight. Proceedings in Life Sciences. Springer, Berlin, Heidelberg, 172- 184.
- Haan N. y Landis D. 2019. Grassland disturbance increases monarch butterfly oviposition and decreases arthropod predator abundance. *Biological Conservation*, 233: 85-192.
- Hansen J.L. y Obrycki J.J. 2000. Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*, 125(2): 241–248.
- Hartzler R.G. 2010. Reduction in common milkweed (*Asclepias syriaca*) occurrence in Iowa cropland from 1999 to 2009. *Journal Crop Protect*, 29(12): 1542–1544.
- Herman W.S. 1981. Studies on the adult reproductive diapause of the monarch butterfly, *Danaus plexippus*. Department of Genetics and Cell Biology, University of Minnesota, 160 (1): 89-106.
- Hermann S.L. Blackledge C. Haan N.L. 2019. Predators of monarch butterfly eggs and neonate larvae are more diverse than previously recognised. *Sci Rep* 9 (1): 1-9.
- Hunt E. y Tongen A. 2017. Un modelo matricial periódico de mariposas monarca. *Natural Resource Modeling*, 30 (2): 2-6.
- Islas A. Ramiro M. González A. Romero M.E. Velasco E. 2015. Riesgo del hábitat de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) ante escenarios de cambio climático. *Revista Xim hai*, 11 (5): 49-59.
- James D.G. 2019. A Neonicotinoid Insecticide at a Rate Found in Nectar Reduces Longevity but Not Oogenesis in Monarch Butterflies, *Danaus plexippus* (L.). (Lepidoptera: Nymphalidae). *Insects*, 10(9): 1-10.
- Knight S.M. Norris D.R. Derbyshire R. y Flockhart D.T. 2019. Strategic mowing of roadside milkweeds increases monarch butterfly oviposition. *Global Ecology and Conservation*, 9: 1-10.
- Krebs C.J. 1989. *Ecological methodology*. Harpercollins Publishers, New York. 654 pp.

- Larsen K.J. y Lee R.E. 1994. Cold tolerance including rapid cold-hardening and inoculative freezing of fall migrant monarch butterflies in Ohio. *Journal of Insect Physiology*, 40(10): 859–864.
- Lemoine N. 2015. Climate Change May Alter Breeding Ground Distributions of Eastern Migratory Monarchs (*Danaus plexippus*) via Range Expansion of *Asclepias* Host Plants. *Journal PLoS ONE*, 10 (2): 2-22.
- López J. 2007. Análisis de cambio de la cobertura forestal en la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca (2006 – 2007). Fondo para la Conservación de la Mariposa Monarca (WWF y FMCN), 2-36.
- López Y. Tejero J.D. Torres A.N. y Luna I. 2011. Flora del bosque mesófilo de montaña y vegetación adyacente en Avándaro, Valle de Bravo, estado de México, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (88) 35-53.
- Masters A.R. Malcolm S.B. y Brower L.P. 1988. Monarch Butterfly (*Danaus Plexippus*) Thermoregulatory Behavior and Adaptations for Overwintering in Mexico. *Journal Ecology*, 69 (2): 458- 467.
- Mattila H.R. y Otis G.W. 2003. A comparison of the host preference of monarch butterflies (*Danaus plexippus*) for milkweed (*Asclepias syriaca*) over dog-strangler vine (*Vincetoxicum rossicum*). *Journal Entomology*, 107(3): 193–199.
- Mejia A.A y Arellano G.A. 1992. Influence of Temperature, Surface Body Moisture and Height Aboveground on Survival of Monarch Butterflies Overwintering in Mexico. *Biotropica*, 24(3): 415-419.
- Merino L. y Hernández M. 2004. Destrucción de instituciones comunitarias y deterioro de los bosques en la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca, Michoacán, México. *Revista Mexicana de Sociología*, 66(2): 261-309.
- Mikery O. Solórzano E. Sánchez D. 2013. Método de marcaje masivo de abejas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) para estudios ecoetológicos. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(1): 248-251.
- Miller N. G. Wassenaar L.I. Hobson K. A. Norris D. R. 2012. Migratory Connectivity of the Monarch Butterfly (*Danaus plexippus*): Patterns of Spring Re-Colonization in Eastern North America. *PLoS ONE*, 7(3): 1-7.

- Montréal. 2013. MISSION MONARCH. Espace pour la vie montréal insectarium. Mission monarch. (Consultado: 10 Octubre 2019, <https://www.mission-monarch.org/es/>).
- Monroy- Vilchis O. 2003. Principios generales de biología de la conservación. Conservación de ecosistemas templados de montaña en México. Instituto Nacional de Ecología. México, 107-116.
- Moreira R.A. Mansano A.S. Rocha O. 2015. The toxicity of carbofuran to the freshwater rotifer, *Philodina roseola*. *Ecotoxicology*, 24(3): 604-15.
- Mubeen G. 2016. Butterflies and their contribution in ecosystem: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(2): 115-118.
- Nail K.R. Stenoien C. y Oberhauser K.S. 2015. Immature Monarch Survival: Effects of Site Characteristics, Density, and Time. *Annals of the Entomological Society of America*, 108(5): 680–690.
- Naturalista. 2018. CONABIO. iNaturalist. (Consultado: 10 Octubre 2019, <https://www.inaturalist.org/taxa/281273-Gomphocarpus-physocarpus>).
- Navis S. Waterkeyn A. Voet T. De Meester L. Brendonc L. 2013. Pesticide exposure impacts not only hatching of dormant eggs, but also hatchling survival and performance in the water flea *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 22: 803–814.
- Oberhauser K. Peterson A.T. 2003. Modeling current and future potential wintering distributions of eastern North American monarch butterflies. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(24): 14063-14068.
- Oberhauser K. Gebhard I. Cameron C. Oberhauser S. 2007. Parasitism of Monarch Butterflies (*Danaus plexippus*) by *Lespesia archippivora* (Diptera: Tachinidae). *The American Midland Naturalist*, 157(2): 312-328.
- Oberhauser R. y Howard E. 2009. Monarch Butterfly Monitoring in North America: Overview of Initiatives and Protocols, 339: 4-49.
- Oberhauser K.S. Prysby M.D. Stanley D.E. Sears M.K. Dively G. 2001. Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98 (21): 11913- 11918.

- Olaya-Arenas y Kaplan I. 2019. Quantifying Pesticide Exposure Risk for Monarch Caterpillars on Milkweeds Bordering Agricultural Land. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7 (223): 1-25.
- Pecenka J.R. y Lundgren J.G. 2015. Non-target effects of clothianidin on monarch butterflies. *The Science of Nature*, 102 (19): 1-4.
- Pelton E.M. Schultz C.B. Jepsen S.J. Black S.H. y Crone E.E. 2019. Western Monarch Population Plummetts: Status, Probable Causes, and Recommended Conservation Actions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7 (258): 1- 7.
- Pitman G.M. Flockhart D.T. y Norris D.R. 2018. Patterns and causes of oviposition in monarch butterflies: Implications for milkweed restoration. *Biological Conservation*, 217: 54–65
- Pleasants J. 2017. Milkweed restoration in the Midwest for monarch butterfly recovery: estimates of milkweeds lost, milkweeds remaining and milkweeds that must be added to increase the monarch population. *Insect Conservation Diversity*, 10 (1) 42–53.
- Pleasants J.M. y Oberhauser K.S. 2013. Milkweed loss in agricultural fields because of herbicide use: effect on the monarch butterfly population. *Insect Conservation Diversity*, 6 (2): 135–144.
- Prysby M.D. y Oberhauser K.S. 2004. Temporal and geographic variation in monarch densities: Citizen scientists document monarch population patterns”. *Monarch butterfly biology and conservation*, Cornell University Press, Ithaca, Nueva York. 11 pp.
- Quispe E.P. Carbajal A.V. Gozzer F. Moreno B.R. 2014. Ciclo biológico y tabla de vida de *Aedes aegypti*, en laboratorio: Trujillo (Perú). *Revista científica de estudiantes*, 1(3): 91- 101.
- Rabinovich J.E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. Continental, México. 313 pp.
- Ramírez M.I. Jiménez M. y Martínez A.I. 2005. Road structure and road density in the Monarch Butterfly Biosphere Reserve, Mexico. *Investigaciones geográficas*, 57: 68-80.

- Ramírez J. Jiménez C. Sánchez J. Rubí M. Figueroa D. 2013. Distribución espacial de *Asclepias curassavica* L, en el estado de México, México. *Journal of experimental botany*, 83: 193- 202.
- Ramos B. Trigo J.R. y Rodrigues D. 2020. *Danaus* butterflies of the Americas do not perform leaf-scratching. *Arthropod-Plant Interactions*, 10: 1-9.
- Rawlins J. y Lederhouse R. 1981. Developmental Influences of Thermal Behavior on Monarch Caterpillars (*Danaus plexippus*): An Adaptation for Migration (Lepidoptera: Nymphalidae: Danainae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 54(2): 387-408.
- Rebasa P. 2005. Conceptos básicos del análisis de supervivencia. *Cirugía Española*, 78(4): 1-9.
- Rendón E. Martínez F. Martínez A. y Cruz M. 2017. Superficie forestal ocupada por las colonias de hibernación de la mariposa monarca durante Diciembre del 2017. *Wildlife Fund-México*. Zitácuaro, Michoacán. 4 pp.
- Roeske C.N. Seiber J.N. Brower L.P. Moffitt C.M. 1976. Milkweed cardenolides and their comparative processing by monarch butterflies (*Danaus plexippus* L.). *Recent Advances in Phytochemistry* 10: 93-167.
- Romero V.J. y Cortina H.A. 2007. Life tables of *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) on three coffee accessions. *Revista Colombiana de Entomología*, 33(1): 10-16.
- Sánchez B.F. y Wyckhuys K.A.G. 2019. Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232: 8–27.
- Satterfield D.A. Maerz J.C. Hunter M.D. Flockhart D.T. Hobson K.A. Norris D. Altizer S. 2018. Migratory monarchs that encounter resident monarchs show life-history differences and higher rates of parasite infection. *Ecology Letters*, 21(11): 1-11.
- Schoonhoven L.M. 1990. Host-marking pheromones in lepidoptera, with special reference to two *Pieris* spp. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 3043–3052.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2010. Protección ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestres, categorías de riesgo y especificación por

- su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación.
- SEMARNAT Y CONANP (2018). Plan de Acción para la Conservación de la Mariposa Monarca en México, 2018–2024, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, México (Consultado: 20 Junio 2019, <https://www.conanp.gob.mx/documentos/PlandeAccionMonarca2018-2024.pdf>)
 - Spirit E.A. Wolfenbarger L.L. McCarty J.P. 2019. *Lespesia archippivora* (Diptera: Tachinidae) Survival and Sex Ratios within Monarch Butterfly (Lepidoptera: Nymphalidae) Hosts. *The American Midland Naturalist*, 182(2): 265-269.
 - Stanley H.D. Dively G.P. Hellmich R.L. Mattila H.R. Sears M.K. Rose R. Lewis L. 2001. Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(21): 11931–11936.
 - Stenoien C. McCoshum S. Caldwell W. De Anda A. y Oberhauser K. 2015. New Reports that Monarch Butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae, *Danaus plexippus* Linnaeus) are Hosts for a Pupal Parasitoid (Hymenoptera: Chalcidoidae, *Pteromalus cassotis* Walker). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 88(1): 16–26.
 - Thogmartin W.E. Wiederholt R. Oberhauser K. Drum R.G. Diffendorfer J.E. Altizer S. López H.L. 2017a. Monarch butterfly population decline in north america: Identifying the threatening processes. *Royal Society Open Science*, 4(9): 1-16.
 - Thogmartin W.E. López- Hoffman L. Rohweder J. Diffendorfer R.D. Semmens D. Black S. Caldwell R. Cotter D. Drobney P. 2017b. Restoring monarch butterfly habitat in the Midwestern US: All hands on deck. *Environmental Research Letters*, 12(7): 1-25.
 - Tuskes P.M. y Brower L.P. 1978. Overwintering ecology of the monarch butterfly, *Danaus plexippus* L., in California. *Journal Ecological Entomology*, 3(2): 141–153.

- IUCN 2019. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2019 -1. (Consultado: 24 Abril 2019, <http://www.iucnredlist.org>).
- Urquhart F.A. y Urquhart N.R. 1976. The overwintering Site of the eastern population of the Monarch Butterfly (*Danaus plexippus*; *Danaidae*) in southern Mexico. *Journal Of The Lepidopterists Society*, 30(7): 1-6.
- Urquhart F.A. y Urquhart N.R. 1978. Autumnal migration routes of the eastern population of the monarch butterfly (*D. plexippus* L.; *Danaidae*; *Lepidoptera*) in North America to the overwintering site in the Neovolcanic Plateau of Mexico. *Can. J. Zool*, 56: 1759-1764.
- Urquhart F.A. y Urquhart N.R. 1979. Vernal Migration of the monarch butterfly (*Danaus plexippus*. *Lepidoptera*: *Danaidae*) in north America from the overwintering site in the neo-volcanic plateau of Mexico. *Journal The Canadian Entomologist*, 111(01): 15-18.
- Van Hook T. y Zalucki M.P. 1991. Oviposition by *Danaus plexippus* (*Nymphalidae*: *Danainae*) on *Asclepias viridis* in northern Florida. *Journal of the Lepidopterists Society*, 45 (3): 215-221.
- Vanbergen A. y Garratt M. 2013. Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 16: 251–259.
- Varona M. Henao G. Lucía D. Sonia L. Murcia A. Rodríguez N. Álvarez V. 2009. Evaluación de los efectos del glifosato y otros plaguicidas en la salud humana en zonas objeto del programa de erradicación de cultivos ilícitos. *Biomédica*, 29 (3): 456-475.
- Velázquez P. 2006. Diagnóstico y propuesta de zonificación ecoturística en el Paraje Piedra Herrada, Estado de México. *El Periplo Sustentable*, (11): 69-96.
- Wilcox A.A.E. Flockhart D.D.T Newman A.E.M. Norris D.R. 2019. An evaluation of studies on the potencial threats contributing to the decline of eastern migratory North American monarch butterflies (*Danaus plexippus*). *Journal Front. Ecol. Evol.* 7(99): 1-12.
- World Health Organization (OMS). 2009. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. (Consultado: 04 Marzo 2020, <http://www.fao.org/pesticide-registration-toolkit/tool/page/pret/hhp/hazard-classifications>).

- Yeargan K.V. y Allard C.M. 2005. Comparison of common milkweed and honeyvine milkweed (Asclepiadaceae) as host plants for monarch larvae (Lepidoptera: Nymphalidae). *Journal Kansas Entomol. Soc.*, 78 (3): 247–251.
- York H. y Oberhauser K. 2002. Effects of Duration and Timing of Heat Stress on Monarch Butterfly (*Danaus plexippus*) (Lepidoptera: Nymphalidae) Development. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 75(4): 290-298.
- Zalucki M.P. 1981. The effects of age and weather on egg laying in *Danaus plexippus* L. (Lepidoptera: Danaidae). *Researches on Population Ecology*, 23(2):318–327.
- Zalucki M.P. y Brower L.P. 1992. Survival of first instar larvae of *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Danainae) in relation to cardiac glycoside and latex content of *Asclepias humistrata* (Asclepiadaceae). *Chemoecology*, 3(2): 81–93.
- Zalucki M.P. Brower L.P. y Alonso M.A. 2001. Detrimental effects of latex and cardiac glycosides on survival and growth of first-instar monarch butterfly larvae *Danaus plexippus* feeding on the sandhill milkweed *Asclepias humistrata*. *Ecological Entomology*, 26(2): 212–224.
- Zalucki M.P. Brower L.P. Malcolm S.B. 1990. Oviposition by *Danaus plexippus* in relation to cardenolide content of three species in the southeastern U.S.A. *Journal Ecological Entomology*, 15 (2): 231-240.
- Zalucki M.P. y Kitching R.L. 1982. Temporal and spatial variation of mortality in field populations of *Danaus plexippus* L. and *D. chrysippus* L. Larvae (Lepidoptera: Nymphalidae). *Oecology*, 53 (2): 201- 207.
- Zalucki M.P. y Kitching R.L. 2009. Dynamics of oviposition in *Danaus plexippus* (Insecta: Lepidoptera) on milkweed, *Asclepias* spp. *Journal of Zoology*, 198(1): 103–116.
- Zalucki M.P. Parry H.R. y Zalucki J.M. 2016. Movement and egg laying in monarchs: to move or not to move, that is the question. *Austral Ecology*, 41 (2): 154–167.
- Zaya D.N. Pearse I.S. y Spyreas G. 2017. Long-term trends in Midwestern milkweed abundances and their relevance to monarch butterfly declines. *BioScience*, 67(4) 343–356.

- Zipkin E.F. Ries L. Reeves R. Regetz J. Oberhauser K.S. 2012. Tracking climate impacts on the migratory monarch butterfly. *Global Change Biol*, 18(10): 3039–3049.