



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ACTIVIDAD INSECTICIDA E INSECTISTÁTICA DE *Senna  
crotalarioides* (Fabaceae) SOBRE *Spodoptera frugiperda*  
(Lepidoptera: Noctuidae)”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

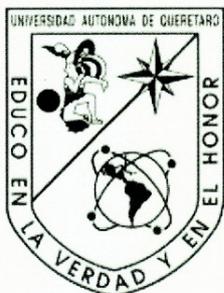
**MAESTRA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA AMBIENTAL**

**PRESENTA**

**Q.F.B. CINTHIA MAGALI QUINTANA LÓPEZ**

**DIRIGIDA POR**

**Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

“ACTIVIDAD INSECTICIDA E INSECTISTÁTICA DE *Senna crotalarioides*  
(Fabaceae) SOBRE *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**MAESTRA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL**

PRESENTA

Q.F.B. CINTHIA MAGALI QUINTANA LÓPEZ

DIRIGIDA POR

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

DIRECTOR

Dr. RODOLFO FIGUEROA BRITO

CO-DIRECTOR

Dr. MAMADOU MOUSTAPHA BAH

SINODAL

Dr. MIGUEL ÁNGEL RICO RODRÍGUEZ

SINODAL

Dr. JUAN RAMIRO PACHECO AGUILAR

SINODAL

\_\_\_\_\_

Firma

\_\_\_\_\_

Firma

\_\_\_\_\_

Firma

\_\_\_\_\_

Firma

\_\_\_\_\_

Firma

\_\_\_\_\_

M.S.P. Sergio Pacheco Hernández  
Director Facultad de Química

\_\_\_\_\_

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña  
Directora Investigación y Posgrado

Centro Universitario

Querétaro, Qro. México

Diciembre, 2017

## RESUMEN

El uso excesivo de insecticidas químicos sintéticos para el control de plagas es cuestionado debido al efecto negativo que tienen sobre el medio ambiente y los seres humanos, a causa de ello se vuelve necesario buscar alternativas para el manejo de este tipo de insectos, que sean menos agresivos pero igual de eficientes. Se ha demostrado que las plantas pueden desarrollar productos con menor impacto ambiental pero con la misma actividad que un insecticida químico sintético, ya que poseen una gran cantidad de compuestos naturales con potencial en el manejo de plagas y enfermedades. Tal es el caso de los extractos orgánicos de *Senna crotalarioides* (Fabaceae). Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad insecticida y/o insectistática de los extractos metanólicos de hojas, tallo y flor, y el extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides* contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Los resultados mostraron que el extracto clorofórmico de hojas fue el que presentó la mayor actividad biológica, ya que a 5000 ppm provocó el mayor efecto insecticida larval (80%) y pupal (90%) con una concentración letal media de 1884.5 ppm. A partir de 500 ppm, presentó actividad insectistática al observarse inhibición del crecimiento al prolongarse la fase larval, registrando un máximo de 11.6 días a 5000 ppm; también ocasionó efecto de inhibición en la alimentación a todas las concentraciones (500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm), ya que a 5000 ppm, el peso pupal fue de 119.3 mg, que corresponde a 52.05% de reducción del peso pupal respecto al control (248.8 mg).

**Palabras clave:** *Senna crotalarioides*, *Spodoptera frugiperda*, actividad insecticida, actividad insectistática, extracto clorofórmico, extracto metanólico

## **ABSTRACT**

The excessive use of chemical synthetic insecticides for pest control is questioned owing to their negative effects on the environment and humans. For this reason, it is necessary to develop alternatives for insect pest management, that have less environmental impact but at the same time are effective. In this context, plants can develop natural products with insecticide and insectistatic activities that can replace synthetic insecticides. Organic extracts of *Senna crotalarioides* (Fabaceae) have some natural products with those activities. The aim of this research was to assess insecticide and/or insectistatic activities of methanolic extracts of leaves, stems and flowers, and chloroformic extracts of leaves of *S. crotalarioides* against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). The results obtained showed that the chloroform extract of the leaves had the highest biological activity, provided that at 5000 ppm it induces larvicide (80%) and pupicide (90%) effects, with the  $LC_{50} = 1884.5$  ppm. From 500 ppm, the extract began to show insectistatic activity, and the highest activity was found at 5000 ppm with an increase of larvae phase up to 11.6 days. It also showed anti feeding effect with any of the concentrations (500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm), since at 5000 ppm, the pupal weight was 119.3 mg, which represented 52.05% compared with that of the control (248.8 mg).

**Key words:** *Senna crotalarioides*, *Spodoptera frugiperda*, insectistatic activity, insecticide activity, chloformic extract, methanolic extract.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	2
3. ANTECEDENTES	3
3.1. Generalidades del maíz	3
3.2. Principales insectos plaga de maíz	4
3.3. Generalidades de <i>Spodoptera frugiperda</i>	5
3.3.1. Descripción y ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	5
3.3.2. Distribución geográfica de <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
3.3.3. Pérdidas económicas provocadas por <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
3.3.4. Métodos de control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	8
3.4. Uso de plantas para el control de insectos plaga	9
3.5. Familia Fabaceae contra insectos plaga	13
3.6. Género <i>Senna</i> contra insectos plaga	14
3.7. Generalidades de <i>Senna crotalarioides</i>	15
3.7.1. Distribución geográfica de <i>Senna crotalarioides</i>	16
3.7.2. Compuestos reportados para el Género <i>Senna</i>	16
3.7.2.1. Compuestos fenólicos	16
3.7.2.2. Funciones de las antraquinonas	17
3.7.2.3. Fuentes de antraquinonas	17
3.7.2.4. Antraquinonas frente a insectos	18

plaga	
4. HIPÓTESIS	19
5. OBJETIVOS	20
5.1. General	20
5.2. Específicos	20
6. METODOLOGÍA	21
6.1. Colecta de material vegetal	21
6.2. Cría de <i>Spodoptera frugiperda</i>	21
6.3. Preparación de extractos de las partes aéreas de <i>Senna crotalarioides</i>	22
6.4. Bioensayo de los extractos orgánicos de las partes aéreas de <i>Senna crotalarioides</i>	23
6.5. Pruebas fitoquímicas a los extractos de las partes aéreas de <i>Senna crotalarioides</i>	23
6.6. Identificación de un principio activo	24
6.7. Identificación de los componentes mayoritarios presentes en <i>Senna crotalarioides</i> por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)	24
6.8. Análisis estadístico	25
7. Resultados	26
7.1. Rendimiento de los extractos orgánicos de las partes aéreas de <i>Spodoptera crotalarioides</i>	26
7.2. Bioensayo del extracto clorofórmico de hojas de <i>Senna         crotalarioides</i> .	26
7.3. Bioensayo del extracto metanólico de hojas de <i>Senna         crotalarioides</i> .	29
7.4. Bioensayo del extracto metanólico de flor de <i>Senna         crotalarioides</i> .	31
7.5. Bioensayo del extracto metanólico de tallo de <i>Senna         crotalarioides</i> .	33
7.6. Bioensayo del extracto metanólico de las partes aéreas	36

de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos.	
7.7. Fraccionamiento del extracto metanólico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i> .	45
7.8. Pruebas fitoquímicas del extracto clorofórmico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i>	47
7.9. Identificación de los componentes mayoritarios del extracto clorofórmico de <i>Senna crotalarioides</i> por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS)	48
8. Conclusiones	51
9. Referencias	52

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Información taxonómica de <i>Zea mays</i>	4
2. Información taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i>	5
3. Plantas que contienen metabolitos con propiedades bioinsecticidas	11
4. Información taxonómica de <i>Senna crotalarioides</i>	15
5. Ingredientes para preparar 100 g de dieta artificial para la cría de larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	21
6. Rendimientos de los extractos orgánicos de <i>Senna crotalarioides</i>	26
7. Actividad insecticida del extracto clorofórmico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	27
8. Actividad insectistática del extracto clorofórmico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	28
9. Actividad insecticida del extracto metanólico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i>	30
10. Actividad insectistática del extracto metanólico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i>	31
11. Actividad insecticida del extracto metanólico de flor de <i>Senna crotalarioides</i>	32
12. Actividad insectistática del extracto metanólico de flor de <i>Senna crotalarioides</i>	33
13. Actividad insecticida del extracto metanólico de tallo de <i>Senna crotalarioides</i>	34
14. Actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de <i>Senna crotalarioides</i>	35
15. Actividad insecticida del extracto metanólico de flor de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	37

16.Relación macho y hembra del extracto metanólico de flor de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	37
17.Actividad insectistática del extracto metanólico de flor de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
18.Actividad insectistática del extracto metanólico de flor de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
19.Actividad insecticida del extracto metanólico de hoja de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	39
20.Relación macho y hembra del extracto metanólico de hoja de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	40
21.Actividad insectistática del extracto metanólico de hoja de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	41
22.Actividad insectistática del extracto metanólico de hoja de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	41
23.Actividad insecticida del extracto metanólico de tallo de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	43
24.Relación macho y hembra del extracto metanólico de tallo de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	43
25.Actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	44
26.Actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de <i>Senna crotalarioides</i> sobre <i>Spodoptera frugiperda</i>	45
27.Fracciones del extracto metanólico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i>	46
28.Pruebas fitoquímicas del extracto clorofórmico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i>	48
29.Composición química del extracto clorofórmico de hojas de <i>Senna crotalarioides</i>	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
2. Estructura general de las antraquinonas	17
3. Estructura química de 1-octacosanol	50
4. Estructura química de 1-triocontanol	51

## 1. INTRODUCCIÓN

El maíz *Zea mays* (Poaceae) desde su domesticación se ha convertido en el grano imprescindible en la alimentación de la población mexicana; se siembra para autoconsumo en las comunidades rurales del país y para su comercialización en los mercados nacional e internacional. Destaca entre todos los cultivos por sembrarse anualmente en casi 8,000,000 hectáreas (ha) que producen alrededor de 21, 000, 000 toneladas (ton), con un rendimiento promedio de 2.63 ton ha<sup>-1</sup> (SAGARPA, 2014).

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las principales plagas que ataca al maíz y son frecuentes e importantes los daños que causa a este cultivo (Alatorre-Rosas y col., 2014) por lo que para controlarla se ha tenido que recurrir al uso de plaguicidas químicos sintéticos tales como los compuestos organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y neonicotinoides, los cuales fueron exitosos en el control de esta plaga en sus inicios, minimizando las pérdidas de las cosechas (González-Castillo y col., 2012; Cortez-Mondaca y Rodríguez-Cota, 2012). Sin embargo, como consecuencia de su uso inadecuado e indiscriminado, pronto aparecieron problemas de resistencia de este insecto hacia estos productos, causando además poca efectividad, altos costos y daños en el medio ambiente y en la salud humana (Vargas-Leandro y col., 2010; Devine y col., 2008).

Con el fin de minimizar esta problemática, se ha propuesto disminuir el uso de los plaguicidas convencionales y desarrollar nuevas estrategias con el objetivo de apoyar con más alternativas a los programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP) (González-Castillo y col., 2012).

Los primeros productos usados por el hombre para contrarrestar el daño causado por plagas de insectos fueron las plantas, en forma de extractos, polvos, infusiones, etc., que se utilizaron antes del surgimiento de los compuestos orgánico sintéticos, debido a que, éstas desarrollan mecanismos de defensa a partir de una señal química que desencadena la producción de enzimas del

metabolismo secundario cuyo resultado final es la síntesis de compuestos químicos que le son útiles para defenderse del ataque de sus herbívoros y patógenos. Ejemplos de ellos son el tabaco, el crisantemo y la rotenona que han sido usadas contra distintos tipos de insectos plaga (Montes- Montes-Belmont, 2009). En general, las propiedades de los metabolitos secundarios no se conocen de forma detallada y algunos pueden actuar contra hongos fitopatógenos, zoopatógenos y de humanos, así como bacterias, nematodos e insectos (Isman, 2000). Estos compuestos son de naturaleza biodegradable y presentan una seguridad relativa para los organismos benéficos, evitando el surgimiento de poblaciones de insectos resistentes (Lizana- Rojas, 2005).

Existen estudios que indican que algunas especies vegetales pertenecientes al género *Senna* (Fabaceae) poseen propiedades insecticidas, repelentes, antibacterianas y anti alimentarias (Murugan y col., 2015; Jalali y col., 2014; Awal y col., 2009); es por ello que en la presente investigación se determinaron las actividades insecticida e insectistática de las partes aéreas de *Senna crotalarioides* (Fabaceae) contra la principal plaga del cultivo de maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

## **2. JUSTIFICACIÓN**

La finalidad del manejo de plagas constituye un factor clave de la sustentabilidad de la agricultura y además pretende conservar o mejorar la salud del hombre, la diversidad biológica y los recursos naturales en general (Alatorre-Rosas y col., 2014). El uso de insecticidas químicos sintéticos ha sido fundamental en el control de plagas agrícolas y por lo tanto en el aumento de rendimiento de los cultivos. Sin embargo, los efectos nocivos de éstos en el medio ambiente han estado limitando su uso cada vez más. Una preocupación de la sociedad es encontrar alternativas que ofrezcan actividad biológica contra insectos que son plaga, así como rendimientos en los cultivos similares a los obtenidos con el empleo de insecticidas químicos sintéticos, pero sin comprometer a la salud

ambiental (Rocha-Estrada y García-Carreño., 2008). Una propuesta alentadora ante esta problemática es el uso de plantas y sus derivados, ya que durante años, éstas han desarrollado mecanismos de protección para contrarrestar el ataque de los insectos, tales como las espinas, las espigas, los tricomas y los pelos glandulares así como la protección química, que consiste en la producción de metabolitos secundarios con actividad insecticida (Sepúlveda-Jiménez y col., 2004). De aquí surge la importancia de estudiar los compuestos presentes en las plantas, ya que ofrecen una oportunidad para descubrir nuevas moléculas con actividad biológica contra insectos plagas sin efectos fitotóxicos en los cultivos e inocuos para el consumidor (Vázquez-Luna y col., 2007).

Por lo que la importancia de esta investigación es demostrar que el empleo de las partes aéreas de *Senna crotalarioides* (Fabaceae) puede ser una alternativa botánica en el manejo de la principal plaga del maíz, el gusano cogollero del maíz [*Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)] y que será probable que las antraquinonas presentes en este género también estén en esta especie y sean las responsables de su actividad insecticida y/o insectistática contra dicha plaga, ya que existen reportes de la presencia de estos metabolitos secundarios en distintas especies del Género *Senna* (Barrese-Pérez y col., 2005; Valencia y col., 2000).

### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1. Generalidades del maíz**

El maíz (cuadro 1) es el principal cultivo en México presente en todos los estados, climas y altitudes en comparación con el sorgo, trigo, cebada, arroz y avena, los cereales más cultivados en el territorio mexicano (SAGARPA, 2013). Se siembran diversas variedades y se consume de distintas formas, participa con el 18% del valor de producción del sector agrícola (88 mil millones de pesos en 2012 y 78 mil millones de pesos en 2013) y concentra el 33% de la superficie sembrada en el territorio nacional (SHCP- FND, 2014). El cultivo de maíz en diversas zonas

de México presenta plagas concurrentes como: el gusano cogollero del maíz *S. frugiperda*, el gusano soldado *Spodoptera exigua*, el gusano elotero *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae), la mosca de los estigmas: *Euxesta stigmatias*, *Eumecosomyia nubilia* y *Chaetopsis massyla*, (Diptera: Ulidiidae) (García-Gutiérrez y col., 2012). Estas plagas plantean un grave problema, ya que se ha reportado que en las regiones tropicales, las pérdidas en este cultivo ascienden hasta en un 40% (García-Lara y Bergvinson, 2007).

**Cuadro1. Información taxonómica de *Zea mays* (Tropicos, 2016)**

Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Liliane
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Maydeae
Genero	<i>Zea</i>
Especie	<i>Zea mays</i>

### 3.2. Principales insectos plaga de maíz

Los cultivos son afectados por plagas que fundamentalmente están constituidos por organismos artrópodos (SAGARPA, 2013). En México como en otros países, al igual que el resto de los cultivos, el maíz guarda una relación trófica entre éste y sus herbívoros o parásitos naturales, los cuales al encontrar un ambiente favorable, aumentan su densidad poblacional convirtiéndose en plagas que atacan en diferentes fases de desarrollo a los cultivos y si no se controlan pueden reducir considerablemente el rendimiento de los mismos, ocasionando una disminución en su producción potencial (Flores-Hueso, 2000).

En nuestro país, el maíz es atacado por unos 57 artrópodos distintos, considerando todas las etapas del cultivo e incluso en almacén (Bahena-Juárez y col., 2010). Los insectos plaga de mayor importancia económica reportadas para el maíz son: la gallina ciega *Phyllophaga spp.* (Coleoptera: Melolonthidae),

gusano de alambre *Elateridae*, *Agrotis sp.*, *Melanotus sp.* (Coleoptera: Elateridae), diabrotica *Diabrotica undecimpunctata* (Coleoptera: Chrysomelidae), gusanos trozadores *Agrotis ipsilon* y *Chorizagrotis auxiliaris* (Lepidoptera: Noctuidae) y el gusano cogollero del maíz, *S. frugiperda*.

### 3.3. Generalidades de *Spodoptera frugiperda*

*Spodoptera frugiperda* (cuadro 2) es conocida comúnmente como “el gusano cogollero del maíz” (por el daño que causa al cogollo del maíz) o “gusano soldado” ya que si el alimento se hace escaso, las larvas se trasladan a otros cultivos desplazándose en masa (como un “regimiento”) (Casmuz y col., 2010). Es una de las principales plagas que atacan al cultivo del maíz ocasionando una reducción de la producción que va del 20% hasta la pérdida total del cultivo desde las primeras etapas de desarrollo de la planta (Del Rincón-Castro y col., 2006).

**Cuadro 2. Información taxonómica de *Spodoptera frugiperda* (Bugguide, 2016)**

Reino	Animalia
Phylum	Arthropoda
Subphylum	Hexapoda
Clase	Insecta
Subclase	Pterygota
Infraclase	Neoptera
Orden	Lepidoptera
Suborden	Frenatae
Superfamilia	Noctuoidea
Familia	Noctuidae
Subfamilia	Noctuinae
Tribu	Caradrinini
Género	<i>Spodoptera</i>
Especie	<i>S. frugiperda</i>

#### 3.3.1. Descripción y ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda*

Los adultos son palomillas que miden aproximadamente 3.75 cm de extensión alar. En el macho, las alas son de color pardo claro, con marcas oscuras

y líneas irregulares pálidas en el centro, mientras que las de la hembra son más oscuras y grisáceas, con diseños menos notorios. Los adultos presentan hábitos nocturnos y tienen una longevidad que varía de 4 a 8 días, dependiendo de las condiciones ambientales; las hembras durante su vida son capaces de producir hasta 3,600 huevecillos los cuales son puestos en masas que varían de 40, 150 y hasta 1500 huevos, colocadas en el envés de las hojas, cubiertas por escamas de la hembra. La incubación varía de 2 a 10 días (Flores-Hueso, 2000). Las larvas son de color pardo amarillento a pardo oscuro; en sus regiones laterales son blanquecinas y presentan líneas longitudinales laterales pálidas y moteadas. La cabeza es parda con reticulaciones y franjas oscuras y en el último estadio alcanzan una longitud máxima de 30-38 mm. Las larvas neonatas viven en grupos al principio y se separan posteriormente, debido a sus hábitos caníbales, quedando en forma general una por planta de maíz. Inicialmente comienzan a alimentarse en el envés de las hojas, se dispersan y se dirigen al cogollo de la planta de maíz; aquí se alimentan de las hojas en crecimiento, las cuales posteriormente muestran perforaciones irregulares. Las larvas pasan por seis estadios en un lapso que puede durar de 2 a 3 semanas; transcurrido este tiempo se introducen en el suelo para pupar (Villa-Castorena y Catalán-Valencia., 2004). Las larvas maduras pueden identificarse perfectamente debido a que presentan una forma de “Y” invertida de color blanco en la parte frontal de la cabeza, además llegan a presentar unas manchas negras en la parte lateral y el cuerpo toma un aspecto rugoso (Casmuz y col., 2010); el cuerpo es cilíndrico, de color café gris dorsalmente y verde ventralmente, con líneas dorsales y subdorsales visibles. Las pupas son de tipo obtecta y miden cerca de 18 mm de longitud; son de color pardo rojizo, con el protórax más oscuro, encontrándose normalmente enterradas en el suelo, donde la temperatura es un factor determinante en el desarrollo de la misma debido a que no soporta climas muy fríos. Este período puede durar de 8 a 9 días en verano y de 20 a 30 días en invierno, luego emergen como adultos; de esta forma, se reanuda su ciclo (Soto-Alcalá, 2008; figura 1).



**Figura 1. Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda***

### 3.3.2. Distribución geográfica de *Spodoptera frugiperda*

El género *Spodoptera* se encuentra presente en todas las regiones agrícolas del mundo, sin embargo, *S. frugiperda* es una especie de distribución americana, desde el sureste de Canadá hasta Chile y Argentina, incluyendo también todas las islas del Caribe. Esta especie es reconocida como la plaga americana más importante de las regiones tropicales y subtropicales ya que en estas zonas el insecto completa todos sus estados de desarrollo en forma continua a lo largo del año. En las zonas templadas y frías se comporta como una plaga estacional, no sobreviven los fríos invernales dado que carecen de mecanismos de diapausa (Casmuz y col., 2010).

### 3.3.3. Pérdidas económicas provocadas por *Spodoptera frugiperda*

El gusano cogollero de maíz es un insecto polífago ya que en su estado larval puede alimentarse de varias especies vegetales. En el maíz hace raspaduras sobre las partes tiernas del envés de las hojas, que posteriormente aparecen como pequeñas áreas traslúcidas; una vez que la larva alcanza cierto desarrollo se dirigen y se alimentan del cogollo del maíz que al desplegarse, las

hojas muestran perforaciones irregulares a través de la lámina o bien áreas alargadas comidas (González-Castillo y col., 2012; Flores-Hueso, 2000).

Esta plaga ataca al cultivo de maíz con niveles de densidad variables, pero siempre poniendo en riesgo la productividad del mismo. Cuando afecta las plantas jóvenes, los daños pueden ser totales, mientras que si afecta las plantas en estados fenológicos avanzados, pueden reponerse de la defoliación llegando a una producción normal; esta característica, junto a su poder de aclimatación a diferentes condiciones permite que su distribución geográfica sea amplia (Casmuz y col., 2010).

Los daños ocasionados por el gusano cogollero *S. frugiperda*, en zonas tropicales y subtropicales son superiores al 60% (Bahena-Juárez y col., 2010). El método de control de *S. frugiperda*, comúnmente utilizado en el maíz, es el uso de plaguicidas químicos sintéticos. Sin embargo, se ha reportado poca efectividad, altos costos, daños ambientales y perjuicio en la salud humana (Vargas-Leandro y col., 2010).

#### **3.3.4. Métodos de manejo de *Spodoptera frugiperda***

Las medidas de manejo de esta plaga cambian con la variedad de maíz y el estado de desarrollo de la planta. La integración de medidas fitosanitarias aumenta la posibilidad de lograr un control efectivo de las diversas plagas que atacan el maíz durante sus distintas etapas de crecimiento, sin embargo, hasta la fecha, el control de *S. frugiperda* se realiza mediante varios métodos (Flores-Hueso, 2000).

**a) Manejo cultural:** Consiste en una buena preparación del suelo con la finalidad de destruir las fases de larva y pupa que se encuentren en el subsuelo cuando se expongan al ataque de enemigos naturales o a la acción directa de la intemperie. También se deben eliminar plantas hospederas donde pudiera alojarse la plaga (Soto-Alcalá, 2008).

**b) Manejo químico:** Es el más comúnmente empleado y se lleva a cabo con la aplicación de productos químicos; sin embargo, a través del tiempo los insectos han adquirido resistencia a varios insecticidas. Comúnmente se aplican piretroides, organoclorados, organofosforados y carbamatos, siendo los más utilizados Carbaril, Paratión metílico y Clorpirifos. Todos estos químicos deben aplicarse hacia el punto de crecimiento de la planta cuando la presencia de las larvas no rebasen el tercer instar de desarrollo (León-García y col., 2012).

**c) Manejo biológico:** En la lucha contra las plagas agrícolas, mediante el empleo de insectos benéficos, la Dirección General de Sanidad Vegetal, de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, ha impulsado los programas de control biológico para disminuir la población de una determinada plaga. *S. frugiperda* es susceptible a depredadores como insectos, arañas, aves, reptiles, anfibios, entre otros; así como, a al menos 20 de entomopatógenos, dentro de ellos, hongos, bacterias, virus, protozoarios y nematodos (Behle y col., 1997).

**d) Manejo biotecnológico:** Las estrategias para el manejo de *S. frugiperda* incluye la utilización de maíces transgénicos que expresan toxinas derivadas de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, denominados maíces *Bt*. Estas plantas resistentes a insectos han sido modificadas para producir toxinas de tipo proteico (codificadas por los genes Cry), obtenidas de distintas cepas de *B. thuringiensis* (Casmuz y col., 2010).

**e) Manejo botánico:** Las especies vegetales son una alternativa para el control de los insectos plaga, ya que un gran número de plantas poseen sustancias (metabolitos secundarios) con actividad insecticida e insectistática que han dado origen a insecticidas botánicos comerciales (Rossetti y col., 2008; Mareggiani, 2001).

### **3.4. Uso de plantas para el control de insectos plaga**

Las plantas han desarrollado diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico para defenderse del daño ocasionado por la herida y el ataque por insectos o microorganismos patógenos, sintetizan enzimas que degradan la pared celular de microorganismos o que tienen la capacidad de inactivar tóxicos de origen microbiano (Sepúlveda-Jiménez y col., 2004).

Los plaguicidas botánicos son derivados de algunas partes o ingredientes activos de las plantas. En los últimos años, la aplicación de varios productos de plantas medicinales ha llamado la atención como alternativas efectivas al uso de productos de origen sintéticos. Estas sustancias vegetales son eficaces, biodegradables y más seguras que sus equivalentes sintéticos, los cuales son altamente persistentes en el medio ambiente y tóxicos para los organismos no blanco, incluidos los humanos, ya que puede provocarles alteraciones que se manifiestan rápidamente y también crónicas como el cáncer. De igual manera, se han encontrado malformaciones congénitas y neuropatías periféricas, asociados a exposiciones repetidas de este tipo de productos químicos (Nava-Pérez y col., 2012).

Diversas especies vegetales (cuadro 3), contienen una serie de fitoquímicos tales como saponinas, taninos, alcaloides, terpenos, entre otros, los cuales presentan alta actividad insecticida. El efecto nocivo de los extractos de plantas o sus compuestos puros contra los insectos se puede manifestar de diversas maneras, incluyendo la toxicidad, la mortalidad, inhiben el crecimiento, la supresión de comportamiento reproductivo y reducen la fertilidad y la fecundidad de los insectos (BenJannet y col., 2001).

La agricultura orgánica promueve el equilibrio entre el desarrollo agrícola y los componentes del agroecosistema, los plaguicidas botánicos respetan este principio, porque además de tener efecto sobre las plagas, sus componentes se descomponen rápidamente en el ambiente y no causan resistencia (Nava-Pérez y col., 2012).

**Cuadro 3. Plantas que contienen metabolitos con propiedades bioinsecticidas**

<b>Familia y especie</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Parte planta</b>	<b>Actividad biológica</b>	<b>Compuestos</b>
Euphorbiaceae <i>Jatropha curcas</i> (Alfonso, 2002)	Piñón botija	Semillas, aceite	Insecticida, molusquicida	Triterpenos, quinonas, glucósidos cianogénicos, flavonoides
Apocynaceae <i>Nerium oleander</i> (Alfonso, 2002)	Adelfa, rosa francesa	Hojas	Insecticida, alelopática, molusquicida	Cardiotónicos, flavonoides, esteroides, triterpenos
Asteraceae <i>Bidens pilosa</i> (Alfonso, 2002)	Romerillo blanco	Flores, planta entera	Insecticida	Alcaloides
Asteraceae <i>Parthenium hysterophorus</i> (Alfonso, 2002)	Escoba amarga	Hojas, planta entera	Insecticida, fungicida	Alcaloides
Asteraceae <i>Tagetes erecta</i> (Alfonso, 2002)	Flor de muerto	Flores, planta entera	Nematicida, insecticida, acaricida	Tiofenos, fenoles, flavonoides, cumarinas
Asteraceae <i>Tagetes patula</i> (Alfonso, 2002)	Damasquina	Flores, planta	Nematicida, insecticida	Tiofenos, fenoles, flavonoides, cumarinas
Asteraceae <i>Cichorium intybus</i> (Mansour y col., 2011)	Achicoria dulce	Planta entera	Insecticida	Flavonoides fenoles
Asteraceae <i>Conyza aegyptiaca</i> (Mansour y col., 2011)	Cola de caballo	Planta entera	Insecticida	Flavonoides fenoles
Asteraceae <i>Sonchus oleraceus</i> (Mansour y col., 2011)	Cerraja, Envidia	Planta entera	Insecticida	Flavonoides fenoles

Asteraceae <i>Bacharis glutinosa</i> (Nava-Pérez y col., 2012)	Batamote, jarilla	Planta entera	Insecticida	Flavonoides fenoles
Cannaceae <i>Canna edulis</i> (Alfonso, 2002)	Canna, achira	Hojas, rizomas	Insecticida, Molusquicida	Fenoles, triterpenos, esteroides, cumarinas.
Meliaceae <i>Azadirachta indica</i> (Alfonso, 2002)	Árbol del nim, Margosa	Semillas, hojas Aceite	Insecticida, antialimentario, fungicida	Triterpenos, azadiractina
Meliaceae <i>Guarea guara</i> (Alfonso, 2002)	Yamao, guarea	Hojas	Insecticida	Terpenos, aceites volátiles, taninos, fenoles
Meliaceae <i>Melia azedarach</i> (Alfonso, 2002)	Paraíso	Fruto, aceite, hojas	Insecticida, antialimentario	Triterpenos, alcaloides.
Solanaceae <i>Brugmansia candida</i> (Alfonso, 2002)	Campana	Flores, hojas	Insecticida, acaricida	Alcaloides
Solanaceae <i>Datura stramonium</i> (Alfonso, 2002)	Chamico	Flores, hojas	Nematicida, insecticida	Alcaloides, flavonoides
Solanaceae <i>Lycopersicon esculentum</i> (Alfonso, 2002)	Tomate	Hojas, frutos	Insecticida	Alcaloides, fenoles, cumarinas
Solanaceae <i>Solanum globiferum</i> (Alfonso, 2002)	Güirito espinoso	Frutos	Molusquicida, antiviral	Alcaloides esteroidales
Solanaceae <i>Solanum mammosum</i> (Alfonso, 2002)	Güirito de pasión, Pechito	Frutos	Molusquicida	Alcaloides esteroidales
Rutaceae <i>Zanthoxylum cubense</i> (Alfonso, 2002)	Ayúa blanca	Planta entera	Fungicida, bactericida	Alcaloides, quinonas, taninos, fenoles, flavonas

Rutaceae <i>Zanthoxylum fagara</i> (Alfonso, 2002)	Amoroso, Limoncillo	Planta entera	Fungicida, insecticida	Alcaloides, quinonas, taninos, fenoles, saponinas
Rutaceae <i>Citrus aurantifolia</i> (Mansour y col., 2011)	Lima, limón dulce	Cascara de la fruta	Insecticida	Flavonoides, fenoles
Myrtaceae <i>Eucaliptus globulus</i> (Nava-Pérez y col., 2012)	Eucalipto	Fruto, hoja	Insecticida Repelente Fungicida	Terpenos, flavonoides, fenoles
Piperaceae <i>Piper nigrum</i> (Mansour y col., 2011)	Pimienta	Semilla	Insecticida	Taninos, alcaloides
Punicaceae <i>Púnica granatum</i> (Mansour y col., 2011)	Granada	Cascara de la fruta	Insecticida, bactericida	Flavonoides, fenoles
Salicaceae <i>Salix safsaf</i> (Mansour y col., 2011)	Sauce	Hojas	Insecticida	Fenoles

### 3.5. Familia Fabaceae contra insectos plaga

Nava-Pérez y col. (2012), presentaron información de dos especies pertenecientes a la familia Fabaceae contra insectos plaga:

- *Canavalia ensiformis*, cuyas semillas poseen actividad insecticida y molusquicida por la presencia de aminoácidos, antocianidinas y poliurónidos.
- *Canavalia gladiata*, las semillas presentan actividad insecticida y molusquicida debido a la presencia de taninos, triterpenos, esteroides, saponinas y aminoácidos.

Pérez e Iannacone (2008), evaluaron la mortalidad y repelencia larval de *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), bajo la acción de diez plantas seleccionadas a partir de 62 especies vegetales con potencial biocida, como producto de la prospección etnobotánica en la Región Ucayali, Perú. Las diez

plantas empleadas fueron: Ucollucuysha *Heliotropium indicum* (Boraginaceae), Floripondio *Brugmansia x candida* (Solanaceae), Oreja de Tigre *Tradescantia zebrina* (Commelinaceae), Piñon Blanco *Jathropa curcas* (Euphorbiaceae), Sacha yoco *Paullinia clavigera* (Sapindaceae), Yuquilla *Euphorbia cotinifolia* (Euphorbiaceae), Achiote *Bixa orellana* (Bixaceae), Retama común *Cassia fistula* (Fabaceae), Huancahuisacha *Aristolochia pilosa* (Aristolochiaceae) y Curare *Chondrodendron tomentosum* (Menispermaceae). Los diez extractos empleados presentaron efectos de mortalidad significativos a las 24 h de exposición, con un orden de mayor a menor efectividad en términos de porcentaje de mortalidad de: Sapindaceae = Bixaceae > Euphorbiaceae > Commelinaceae > Menispermaceae > Aristolochiaceae > Fabaceae = Solanaceae > Boraginaceae > Euphorbiaceae.

### **3.6. Género *Senna* contra insectos plaga**

Se ha reportado la actividad insecticida de los extractos metanólicos de *Senna obtusifolia* y *Senna tora* y del extracto etanólico de *Senna occidentalis* contra el mosquito del dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (Young-Su y col., 2002; De Omena y col., 2007).

Valencia y col. (2000) mostraron que los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Senna stipulaceae* tuvieron inhibición de la alimentación de 91.2% para hojas y 84.2% para tallos frente a *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) y que los compuestos reportados para estos extractos fueron: B-sitosterol, estigmasterol, centauridina, jaceidina, emodina y un compuesto dimérico 5-(3-formil-4-hidroxifenoxi)-2-hidroxibenzaldehído.

Venkatesan y col. (2014) analizaron los extractos realizados con los siguientes solventes, hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas de *Cassia occidentalis* (Fabaceae) para evaluar su efecto larvicida y adulticida sobre vector de la malaria urbana, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). Reportaron que la mortalidad de las larvas en la concentración más baja (62.5 ppm) y la más alta (8000 ppm) fue de 13.8 y 66.5, 28.0, 72.5, 23.3 y 62.2%, respectivamente. El

extracto de acetato de etilo presentó la mayor actividad adulticida de 73% con una DL<sub>50</sub> de 0.23 µg/hembra.

Jalali y col. (2014) investigaron los inhibidores de la proteasa de *Senna angustifolia* ya que existen estudios que sugieren que esta proteína, presente en diversas especies vegetales, es capaz de interferir con el crecimiento normal y desarrollo de los herbívoros mediante la inhibición de la actividad de la enzima proteolítica (tripsina) por lo que en su estudio emplearon extractos de esta proteína contenida en las semillas de *S. angustifolia*, sobre los extractos de enzima proveniente del intestino medio de larvas de la polilla cosmopolita de las harinas *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Los resultados mostraron que el inhibidor de proteasas de *S. angustifolia*, ocasionó 99.79% de inhibición de la digestión y afectación de intestino medio de larvas de la polilla *P. interpunctella*. Venkatesan y col. (2014) evaluaron el efecto insectistático de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas de *Cassia occidentalis* (Fabaceae) sobre *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) al estudiar el desarrollo y el crecimiento de larvas de 1er instar de *A. stephensi*, reportando que el extracto hexánico prolongo 11 días el periodo larval (500 ppm) respecto al control (8 días) y tanto el extracto de hexano (250 ppm), acetato de etilo (125, 250 ppm) y metanol (250 y 500 ppm) prolongaron el periodo pupal 9 días respecto al control (1 día).

### 3.7. Generalidades de *Senna crotalarioides*

*Senna crotalarioides* (cuadro 4) posee propiedades antioxidantes y en la medicina tradicional, se emplea como antiinflamatorio (García- Rodríguez y col., 2011).

**Cuadro 4. Información taxonómica de *Senna crotalarioides* (Tropicos, 2015)**

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae

Género	<i>Senna</i>
Especie	<i>S. crotalarioides</i>

### 3.7.1. Distribución geográfica de *Senna crotalarioides*

Es una planta nativa de América del Norte. En México se encuentra en estados como Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Zacatecas, entre otros (UNAM, 2009; Tropicos, 2016).

### 3.7.2. Compuestos reportados para el género *Senna*

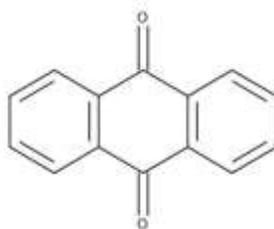
Antecedentes químicos de especies pertenecientes al género *Senna* informan la presencia de un elevado número de flavonas y compuestos relacionados, alcaloides, cromonas, tetrahydroantracenos, lactonas, estilbenos y triterpenos (Valencia y col., 2000). Barrese- Pérez y col. (2005) desarrollaron una técnica para cuantificar antraquinonas presentes en *Senna alata*, obteniendo el mayor contenido antraquinónico en el ensayo donde la hidrólisis se había realizado en presencia de tricloruro férrico.

#### 3.7.2.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las familias más numerosas y ampliamente distribuidas en el reino vegetal, con más de 8000 estructuras conocidas (Lara- Cortés y col., 2014). Han sido de interés porque son esenciales para la fisiología y la morfología de las plantas. Están involucrados en el crecimiento y la reproducción, y confieren resistencia a las plantas frente a agentes patógenos y depredadores. Tienen un anillo aromático en común con uno o más grupos hidroxilos. Estos compuestos pueden ser divididos en varios grupos de acuerdo con su estructura química básica (Vélez-Serna y Villa-Pulgarín, 2012) y se clasifican de la siguiente manera: Fenoles simples, benzoquinonas, ácidos fenólicos, ácido feniácético, acetofenoles, ácido hidroxicinámico, polipropano, cumanesa, isocumarina, naftoquinona, xantonas, antraquinona, estilbeno,

flavonoides; isoflavonas, lignanos; neolignano, bioflavonoides, ligninas, melanoidinas, taninos (González- Jiménez, 2010; Vélez-Serna y Villa-Pulgarín, 2012).

Entre los compuestos fenólicos cabe destacar las antraquinonas (figura 2), que son por mucho el grupo más amplio de las quinonas naturales y son la base y fuente de una importante cantidad de colorantes (Vélez y Villa, 2012); además son una clase de metabolitos secundarios vegetales con una funcionalidad p-quinoides en un núcleo antracénico (Bustamante- Botero y Carrascal, 2010).



**Figura 2. Estructura general de las antraquinonas**

### **3.7.2.2. Funciones de las antraquinonas**

Se ha reportado que las antraquinonas ejercen una amplia gama de actividades biológicas incluyendo antifúngico, antimicrobiano, anticancerígeno y antioxidante. Funcionan como analgésicos y poseen potentes propiedades antibióticas, tanto para virus como para bacterias (Vélez y Villa, 2012).

### **3.7.2.3. Fuentes de antraquinonas**

Las antraquinonas están ampliamente distribuidas en microorganismos, plantas, equinodermos e insectos. Las familias vegetales más ricas en compuestos antracénicos son las rubiáceas, las ramnáceas y las poligonáceas; y en una menor proporción las liliáceas, fabáceas, bignoniáceas, melastomatáceas, droseráceas, vismiáceas, etc. Estas sustancias pueden encontrarse en diferentes partes de la planta como hojas, tallos, madera y frutos; se les encuentra principalmente en forma de glicósidos y en menor proporción en forma libre o

agliconas. Sus componentes más importantes y activos son los derivados hidroxiantracénicos (15 – 40%) como la antraquinona glicosilada aloína A y B; aloinósido A y B y 5- hidroxialoína (Bozzi y col., 2006).

#### **3.7.2.4. Actividad biológica de las antraquinonas**

La aloína es un líquido amarillo de sabor amargo, considerada el compuesto antraquinónico más importante del *Aloe vera*, es una antrón-C-glucósido (10-glucopiranosil-1, 8-dihidroxi-3-(hidroximetil)-9(10H)-antracena), está presente en las hojas de especies de aloe (Vélez y Villa, 2012); se produce de forma natural y la planta la secreta como defensa para alejar depredadores por su olor y sabor desagradables; es un veneno, laxante y abortivo (Rivero-Martínez y col., 2002; Vélez-Serna y Villa-Pulgarín, 2012).

Rivero-Martínez y col. (2002), evaluaron el extracto obtenido de la corteza de *Aloe vera* y determinaron la efectividad media frente al virus *Herpes simplex* tipo 1. El extracto presentó actividad antiviral in vitro frente a este virus, resultado de la acción que producen metabolitos secundarios presentes en esta especie vegetal, caracterizados en la investigación, los cuales fueron aminoácidos, aminas, fenoles, flavonoides, azúcares reductores, quinonas (naftaquinonas y antraquinonas) y grupos lactónicos.

#### **4. HIPÓTESIS**

Los extractos orgánicos obtenidos de las partes aéreas de *Senna crotalarioides* (Fabaceae) presentarán actividad insecticida y/o insectistática sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) debido a la presencia de antraquinonas.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1. General**

Determinar la actividad insecticida y/o insectistática de extractos orgánicos de las partes aéreas de *Senna crotalarioides* contra *Spodoptera frugiperda*.

### **5.2. Específicos**

- a) Evaluar la actividad insecticida y/o insectistática de los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas de *S. crotalarioides* contra *S. frugiperda*.
- b) Estimar la actividad insecticida y/o insectistática del extracto metanólico de los tallos de *S. crotalarioides* contra *S. frugiperda*.
- c) Evaluar la actividad insecticida y/o insectistática del extracto metanólico de las flores de *S. crotalarioides* contra *S. frugiperda*.
- d) Identificar el compuesto mayoritario en el extracto que presentó la mayor actividad.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1. Colecta de material vegetal

Se colectaron las partes aéreas (hoja, tallo y flores) de *S. crotalarioides* en el municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí, México, el cual se localiza entre las coordenadas geográficas 22° 37' de latitud norte, y 100° 24' de longitud oeste; a una altitud promedio de 1,640 msnm. Las partes aéreas de la plantas, se dejaron secar a la sombra durante 15 días a temperatura ambiente y posteriormente se pulverizaron en un molino Thomas-Wiley Modelo 4 con tamaño de partícula de 1 mm.

### 6.2. Cría de *Spodoptera frugiperda*

Se colectaron larvas, pupas y adultos de *S. frugiperda* en el Centro de Innovación de Agricultura Sostenible en Pequeña Escala (CIASPE), ubicado en la Carretera a los Cues, perteneciente al municipio de El Marqués, localizándose entre las coordenadas 20°33 '09.6" latitud Norte y 100°15'38 longitud Oeste, en el Estado de Querétaro. Los especímenes se llevaron al Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, donde se les dio una dieta artificial (Cuadro 5) y se reprodujeron para trabajar con la F2.

**Cuadro 5. Ingredientes para preparar 100 g de dieta artificial para la cría de larvas de *S. frugiperda***

<b>Ingrediente</b>	<b>Cantidad</b>
Agua	80 mL
Agar- agar	1.0 g
Maíz molido	9.0 g
Frijol molido	3.0 g
Levadura de cerveza	2.0
Vitaminas	1.0 g

Sulfato de neomicina	0.06 g
Ácido ascórbico	0.17 g
Metil p-hidroxibenzoato	0.17 g
Formaldehído	0.25 mL
Etanol	1.70 mL

Los adultos de *S. frugiperda* se colocaron en una bolsa de papel encerado para que se aparearan y ovipositaran en las paredes de las bolsas. Cuando las larvas eclosionaron se colocaron individualmente en vasos de plástico No. 0 Marca PRIMO con 3 gramos de dieta artificial (Cuadro 5), al llegar al sexto ínstar se esperó hasta la formación de las pupas y se pasaron a un recipiente hasta la emergencia de adultos, los cuales se colocaron en una cámara climática a  $25 \pm 2$  °C,  $70\% \pm 5\%$  de humedad relativa, y un fotoperiodo de 12:12 h de luz: oscuridad, según la metodología propuesta por Bergvinson y Kumar (1997).

### **6.3. Preparación de extractos de las partes aéreas de *Senna crotalarioides***

Para obtener el extracto clorofórmico se utilizaron 100 g de hojas de *S. crotalarioides*, previamente secas y molidas, los cuales fueron colocados en el interior de un matraz bola de 1 L con 500 mL de cloroformo; la mezcla se colocó en posición de reflujo durante 4 h, el extracto se filtró a vacío en un matraz Kitazato de 2 L y embudo Buchner, el disolvente obtenido se eliminó a presión reducida usando un evaporador rotatorio BUCHI R-210. A otros 100 g de polvo de las hojas de *S. crotalarioides* se les realizó el mismo procedimiento pero utilizando como disolvente metanol. Esto mismo se realizó para obtener los extractos clorofórmico y metanólico de tallos y de flores de *S. crotalarioides*. En total se utilizaron 300 g para cada estructura vegetal (Pérez y col., 2009).

#### **6.4. Bioensayo de los extractos orgánicos de las partes aéreas de *Senna crotalarioides***

Previo al bioensayo final se realizó una prueba preliminar a cada extracto de cada estructura vegetal con la finalidad de determinar la actividad biológica de cada tratamiento, empleando 5 concentraciones logarítmicas (5000, 500, 50, 5 y 0.5 ppm) más un control negativo (sólo dieta) y un control positivo (Insecticida botánico PHC NEM). Para el ensayo final se evaluaron las concentraciones 5 000, 4 000, 2 000, 1 000, 500 y 0 ppm para los extractos; y 1 000, 600, 400, 120, 80 y 0 ppm para el principio activo de *S. crotalarioides* siguiendo la metodología propuesta por Rodríguez y Vendramim, 1996. Cada tratamiento (concentración) contó con 20 repeticiones. Los tratamientos se prepararon vertiendo 1 mL de la dieta mezclada con cada una de las concentraciones de cada extracto en un vaso de plástico del número 0 con tapa ajustable de marca PRIMO, se dejó solidificar la dieta a temperatura ambiente por 24 horas, posteriormente con un pincel del No. 0 se les colocó una larva de segundo instar de *S. frugiperda*, las cuales fueron seleccionadas al azar, luego se les puso una tapa ajustable del número 0 de la marca PRIMO, los vasos se marcaron por tratamientos y repetición y se distribuyeron de manera aleatoria en el interior de una cámara climática a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa, y un fotoperiodo de 12:12 h de luz. Los tratamientos se revisaron cada tercer día, hasta la formación de larvas de 6° instar en el control, momento en el que se realizaron observaciones diariamente para determinar el día en que se alcanzará el estado de pupa. Las variables evaluadas en la presente investigación fueron la viabilidad larval y pupal, duración larval y pupal, el peso larval a los 7,14 y 21 días y el peso de la pupa a las 24 h de su formación (Ramos-López y col., 2010). De este ensayo se seleccionara al/los extracto(s) más activo(s) para realizarle pruebas fitoquímicas.

#### **6.5. Pruebas fitoquímicas a los extractos de las partes aéreas de *Senna crotalarioides***

Al extracto más activo se le realizaron las siguientes pruebas fitoquímicas.

1) Alcaloides: Reactivo de Dragendorff, reactivo de Mayer; 2) Cumarinas: fluorescencia con NaOH; 3) Flavonoides: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y reacción de Shinoda; 4) Lignanós: FeCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 5) Nafto y antraquinonas: Reacción de Borrrträger-Krauss; 6) Triterpenos y esteroides: reactivo de Liberman (Carvajal-Rojas y col., 2009).

### **6.6. Identificación de los componentes mayoritarios**

El extracto que presentó la mayor actividad insecticida y/o insectistática se separó por cromatografía en columna empacada con sílica gel 60 (Merck) como fase estacionaria. Las fracciones obtenidas se analizaron por cromatografía en capa fina (TLC, por sus siglas en inglés) para determinar similitud entre ellas. Las variables de respuesta del bioensayo determinaron cuál fue la fracción o fracciones indicadas para seguir con su separación y posterior purificación e identificación del o los compuesto (s) responsable(s) de la actividad insecticida y/o insectistática.

### **6.7. Identificación de los componentes mayoritarios presentes en *Senna crotalarioides* por cromatografía de gases acoplado a masas**

Para el análisis por GC-MS se tomó 20 µg del extracto clorofórmico de *S. crotalarioides* y se disolvió en 1 mL de acetona. El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent Technology modelo 6890N acoplado a un detector selectivo de masas modelo 5973. Se utilizó una columna capilar HP-5MS de 30 m de largo 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de tamaño de partícula. Se inyectó 1µL del extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides* al puerto de inyección a 250 °C, en el modo Splitless. El programa de temperatura en el horno fue de 50°C por 2 min, con un incremento de 3°C min<sup>-1</sup> hasta 240°C por 2 min. Los espectros fueron colectados a 71 eV de voltaje de ionización y el rango de masas analizadas fue de 15- 600 m/z. Los compuestos fueron identificados por

comparación de sus espectros de masas con los espectros de referencia (librería Wiley09/NIST11), y por comparación de los índices de Kovats obtenidos en base a n-alcenos de C6- C26 de la librería Wiley09/NIST11.

### **6.8. Análisis estadístico**

Cada extracto de cada estructura vegetal contó con 5 concentraciones más un control positivo y uno negativo. Cada concentración constó de 20 individuos divididos en 4 unidades experimentales, con 5 repeticiones cada uno. Los datos fueron analizados con pruebas no paramétricas para determinar la normalidad y la homoscedasticidad de los datos, posteriormente se les realizó un análisis de varianza de una vía y una prueba de ajuste de medias de Tukey con un nivel de significación de 0.05 y se determinaron las concentraciones letales media para los extractos y el principio activo con el paquete estadístico SYSTAT 9.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Rendimiento de los extractos orgánicos de las partes aéreas de *S. crotalarioides*

Los rendimientos obtenidos para cada uno de los extractos se muestran en el cuadro 6, donde los extractos metanólicos en las partes aéreas de *S. crotalarioides*, fueron mayores a los extractos clorofórmicos.

**Cuadro 6. Rendimientos de los extractos orgánicos de *Senna crotalarioides***

Rendimiento (%)		Extractos	
		Clorofórmico	Metanólico
	Flor	0.45	5.48
	Hoja	0.56	4.6
	Tallo	0.38	7.4

García-Rodríguez y col. (2011) reportaron un rendimiento de 2.20% para el extracto clorofórmico y 1.24% del extracto metanólico de *S. crotalarioides*; en ambos casos existen diferencias notorias con los rendimientos obtenidos en el presente trabajo. Esta variación puede deberse a las partes de esta especie que se emplearon en dicho estudio y a la metodología usada durante la molienda debido al tamaño de partícula al que se trabajó la especie vegetal, así como la colecta del material vegetal, que si bien se realizó en el mismo sitio, no se realizó en el mismo año ni en los mismos individuos.

### 7.2. Bioensayo del extracto clorofórmico de hojas de *Senna crotalarioides*.

#### Actividad insecticida

El cuadro 7 muestra que a partir de 1000 ppm el extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides* presentó actividad insecticida contra *S. frugiperda*, ya

que a esta concentración la mortalidad larval fue de 50% y conforme aumentó la concentración del extracto el porcentaje de mortalidad incrementó, encontrando diferencia significativa entre los tratamientos. En la formación de adultos sólo emergieron el 35, 20, 15 y 10% a 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente, observando que al incrementar la concentración del extracto, fue decreciendo la viabilidad pupal, con una concentración letal media de 1884.5 ppm.

**Cuadro 7. Actividad insecticida del extracto clorofórmico de hojas de *Senna crotalarioides* contra *Spodoptera frugiperda*.**

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	80.0 ± 9.2*	90.0 ± 6.9*
4,000	70.0 ± 10.5*	85.0 ± 8.2*
2,000	65.0 ± 10.9*	80.0 ± 9.2*
1000	50.0 ± 11.5*	65.0 ± 10.9*
500	25.0 ± 9.9	35.0 ± 10.9
Control	10 ± 6.9	15.0 ± 8.2
CL <sub>50</sub>	1884.5 ppm	

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ . CL<sub>50</sub> Concentración letal media.

Yagi y col. (2013) investigaron la actividad insecticida de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico de *Senna italica* contra *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Callosbruchus analis* (Coleoptera: Bruchidae); observaron que el extracto hexánico fue el que mostró mayor actividad insecticida contra *C. analis* (100%) en comparación con el clorofórmico (20%) y metanólico (20%); esta actividad biológica fue resultado de los principales compuestos químicos apolares presentes en *S. italica* a los que es susceptible esta plaga de grano. Para *T. castaneum* ninguno de los extractos mostró actividad biológica al observarse 0% de mortalidad. Por otra parte, Venkatesan y col. (2014) analizaron los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas de *Cassia occidentalis* (Fabaceae) para evaluar su efecto larvicida (62.5, 125, 250, 500,

1000, 2000, 4000 y 8000 ppm) y adulticida (0.01, 0.05, 0.10, 0.25 y 0.50 µg/mosquito hembra), sobre vector de la malaria urbana, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). Reportaron que la mortalidad de las larvas en la concentración más baja (62.5 ppm) y la más alta (8000 ppm) fue de 13.8 y 66.5, 28.0, 72.5, 23.3 y 62.2%, respectivamente. Con una CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> de 5303.4 y 11076, 3792.3 y 10223.8 y 4432.6 y 11 014.9 ppm, respectivamente. El extracto de acetato de etilo presento la mayor actividad adulticida de 73% (0.50 µg/hembra) con una DL<sub>50</sub> de 0.23 µg/hembra.

### Actividad insectistática

Se observó inhibición del crecimiento al prolongarse la fase larval 2.5, 3.6, 7.5, 8.1 y 11.6 días a concentraciones de 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente, comparada con el control (21.2 días). También se presentó inhibición del desarrollo al incrementarse la duración pupal 2.8, 5.7, 8.6 y 11.4 días a 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente. El extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides* ocasionó efecto de inhibición en la alimentación al disminuir el peso de la pupa 10.82, 17.41, 37.66, 43.93 y 52.95% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente, comparado con el control (248.8 mg) (Cuadro 8).

**Cuadro 8. Actividad insectistática del extracto clorofórmico de hojas de *Senna crotalarioides* contra *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)
	Larva	Pupa	
5,000	32.8 ± 2.96*	22.5 ± 0.50*	119.3 ± 21.8*
4,000	29.3 ± 0.84*	19.7 ± 0.88*	139.5 ± 10.0*
2,000	28.7 ± 0.75*	16.8 ± 0.48*	155.1 ± 18.3*
1000	24.8 ± 0.44*	13.9 ± 0.30*	205.5 ± 4.6*
500	23.7 ± 0.45*	11.8 ± 0.37	221.9 ± 3.3*
Control	21.2 ± 0.49	11.1 ± 0.26	248.8 ± 6.1

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \*

Diferencia significativa respecto al control; p<0.001

Jalali y col. (2014) investigaron los inhibidores de la proteasa de *Senna angustifolia* ya que existen estudios que sugieren que esta proteína, presente en diversas especies vegetales, es capaz de interferir con el crecimiento normal y desarrollo de los herbívoros mediante la inhibición de la actividad de la enzima proteolítica (tripsina) que se encuentra en su sistema digestivo, ya sea a través de un ensayo directo o mediante su expresión en plantas transgénicas, por lo que en su estudio emplearon extractos de esta proteína contenida en las semillas de *S. angustifolia*, obtenidas del Instituto de Plantas Medicinales de Irán, sobre los extractos de enzima proveniente del intestino medio de larvas de la polilla cosmopolita de las harinas *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Los resultados mostraron que el inhibidor de proteasas de *S. angustifolia*, empleada a una concentración de 1000, 10 y 0.1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , ocasionó 99.79% de inhibición de la digestión y además causó afectación del intestino medio de larvas de la polilla *P. interpunctella*. Venkatesan y col. (2014) también evaluaron el efecto insectistático de los extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de las hojas de *Cassia occidentalis* (Fabaceae) sobre *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) al estudiar el desarrollo y el crecimiento de larvas de 1er instar de *A. stephensi*, reportando que el extracto hexánico prolongó 11 días el periodo larval (500 ppm) respecto al control (8 días) y tanto el extracto de hexano (250 ppm), acetato de etilo (125, 250 ppm) y metanol (250 y 500 ppm) prolongaron el periodo pupal 9 días respecto al control (1 día). Para la transformación de larva a pupa, el extracto metanólico a 250 ppm, mostró el menor porcentaje (74.8%) y de pupa a adulto lo fue el extracto hexánico a 500 ppm (0.9%), ambos respecto al control (100%).

### **7.3. Bioensayo del extracto metanólico de hojas de *Senna crotalarioides*.**

El extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides*, presentó mortalidad larval del 100% a 500 ppm, y conforme aumentó la concentración la viabilidad larval disminuyó respecto al control negativo (Cuadro 9); el resto de las larvas no

llegaron a pupar y si lo hacían morían a los 3 días de su formación; esta respuesta biológica se debe probablemente a la susceptibilidad de cada individuo frente a este extracto; la concentración letal media fue de 17.66 ppm, cifra que se encuentra muy por debajo de la concentración mínima que se empleó durante el ensayo, lo que nos sugiere anormalidad en nuestros datos.

**Cuadro 9. Actividad insecticida del extracto metanólico de hojas de *Senna crotalarioides***

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	90±6.88*	10±6.88
4,000	100±0.0*	0.0±ND*
2,000	85±8.19*	0.0±ND*
1000	85±8.19*	0.0 ±ND*
500	100±0.0*	0.0±ND*
Control	5±5	10±6.88
Nim	75±9.93*	0.0±ND*
CL <sub>50</sub>	17.66 ppm	

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ . CL<sub>50</sub> Concentración letal media. ND (No Determinado).

Se observó inhibición del crecimiento al prolongarse la fase larval 25 días a 5000 ppm comparada con el control (22 días). Se presentó una inhibición del desarrollo al no emerger adultos de las pocas pupas formadas. El extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides* ocasionó inhibición en la alimentación al disminuir el peso de la pupa 9.11% (211 mg) a 5000 ppm comparado con el control (232.17 mg). Este efecto de igual manera se observó al reportar el peso de las larvas a los 7 días del ensayo, ya que presentaban peso de 6.33, 6 y 9 mg a 5000, 1000, 500 ppm, respectivamente, comparado con el control (195.33 mg); para el resto de las concentraciones, el peso no se podía determinar por ser larvas muy pequeñas (Cuadro 10).

**Cuadro 10. Actividad insectistática del extracto metanólico de hojas de *Senna crotalarioides***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)	Peso larva a los 7 días (mg)
	Larva	Pupa		
5,000	47±2.52*	0.0±ND*	211±3.16	6.33±0.52*
4,000	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*
2,000	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*
1000	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*	6±0.77*
500	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*	9±ND*
Control	22±0.71	9.65±0.23	232.17±4.89	195.33±24.6
Nim	34±ND*	7±ND*	183±ND	7.14±1.36*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. ND (No Determinado).

Baskar e Ignacimuthu (2012) obtuvieron un extracto de acetato de etilo de *Senna tora*, de donde aislaron Ononitol monohidrato, un insecticida botánico empleado para diversas plagas agrícolas; en su ensayo observaron que a 1000 ppm existe un porcentaje de actividad larvicida de 63.11 y 58.22%, 61.66 y 56.66% de actividad pupicida, 74.57 y 69.05% de efecto antialimentario, sobre *Helicoverpa armigera* y *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), respectivamente, además observaron inhibición del crecimiento larval al reportarse incremento en la duración larval, 4.15 días para *H. armigera* comparado con el control (8.98 días) y 4.86 días más que el control (8.7 días) para *S. litura* e inhibición del desarrollo al reportarse un incremento en la duración pupal 5.92 días más que el control (9.58 días) para *H. armigera* y 4.28 días respecto al control (10.12 días) para *S. litura*.

#### **7.4. Bioensayo del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides***

El extracto metanólico de flor de *S. crotalarioides* presentó actividad insecticida frente a *S. frugiperda* al mostrar disminución de la viabilidad de 35, 20, 35, 5 y 15% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente en

comparación con el control (95%). Se observó que tanto en la mortalidad larval y pupal, no se siguió una respuesta normal de la actividad biológica del extracto conforme la concentración va incrementando. En la formación de adultos sólo emergieron el 15, 20 y 15% a 5000, 2000 y 500 ppm, respectivamente, los cuales presentaban deformidades en sus alas, o no emergían completamente. La concentración letal media fue de 36.22 ppm, nuevamente muy por debajo de la concentración mínima empleada durante el ensayo (Cuadro 11).

**Cuadro 11. Actividad insecticida del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides***

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	85 ± 8.19*	0.0 ± ND*
4,000	95 ± 4.99*	0.0 ± ND*
2,000	75 ± 9.93*	5 ± 4.99*
1000	80 ± 9.17*	20 ± 9.17*
500	75 ± 9.93*	10 ± 6.88
Control	5±5	10 ± 6.88
Nim	75 ± 9.93*	0.0 ± ND*
CL <sub>50</sub>	36.22 ppm	

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. CL<sub>50</sub> Concentración letal media. ND (No Determinado).

En el cuadro 12 se observa que existió inhibición del crecimiento al incrementarse la duración larval 4.67, 34.5, 1.8 y 11.67 días a 500, 1000, 2000 y 5000 ppm respectivamente, comparado con el control (22 días). También se presentó inhibición del desarrollo al incrementarse la duración pupal 5.35, 7.85 y 11.38 días a 500, 2000 y 5000 ppm, respectivamente, conforme aumenta la concentración, la duración pupal también lo hace. El extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides* ocasionó inhibición de la alimentación al disminuir el peso de la pupa 26.2, 36.79, 13.16 y 3.5%.

Se registró el peso de las larvas a los 7 días del ensayo, donde el menor peso reportado fue a 5000 ppm (24.31 mg), posteriormente lo fue a 1000 ppm (29.5 mg), 4000 ppm (33 mg), 500 ppm (41.89 mg) y 2000 ppm (77.43 mg), los datos se encuentran muy por debajo del peso observado en el control (195.33 mg) y no siguen una secuencia ascendente ni descendente conforme se incrementa o disminuye la concentración del extracto metanólico de flores de *S. crotalarioides*.

**Cuadro 12. Actividad insectistática del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)	Peso larva a los 7 días (mg)
	Larva	Pupa		
5,000	33.67±1.48*	21±0.44*	224±6.79*	24.31±4.8*
4,000	0.0±ND*	0.0±ND*	0.0±ND*	33.1±7.4*
2,000	23.8±1.40	17.5±0.56*	201.6±9.16*	77.43±8.8*
1000	56.5±2.14*	0.0 ± ND*	146.75±13.76*	29.5±4.68*
500	26.67±1.12*	15±ND*	171.33± 5.57*	41.89±5.76*
Control	22±0.71	9.65±0.23	232.17±4.89	195.33±24.6
Nim	34±ND*	7 ± ND*	183±ND*	7.14±1.36*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \*

Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ . ND (No Determinado).

Kumar y col., (2013) analizaron el extracto metanólico de las hojas de *Senna alata*, a concentraciones de 10, 50, 100, 200 y 400 ppm sobre *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Reportaron una mayor actividad larvicida al obtener 100% de mortalidad a 400 ppm en el 1°, 2° y 3° instar y una  $CL_{50}$  de 94.42 ppm, actividad pupicida (58% de mortalidad a 400 ppm), disminución de la longevidad al reducirse 5.1 días a 400 ppm respecto al control (11.7 días) y fecundidad al disminuir 887, 792, 621, 408 y 127 número de huevos a 50, 100, 200 y 400 ppm, respectivamente, comparado con el control (980 huevos).

#### **7.5. Bioensayo del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides*.**

El cuadro 13 muestra que a partir de 500 ppm el extracto metanólico de tallo de *S. crotalarioides* presentó actividad insecticida contra *S. frugiperda* ya que la mortalidad larval fue de 60%, sin embargo a 1000 ppm la viabilidad larval fue de 80% donde se esperaba que por ser mayor la concentración, la mortalidad también se incrementará, a 2000, 4000 y 5000 ppm la viabilidad larval fue de 30, 25 y 10%, respectivamente. En la formación de adultos sólo emergieron el 10, 75, 25 y 10% a 500, 1000, 2000 y 4000 ppm, respectivamente. Se obtuvo una CL<sub>50</sub> de 88.92 ppm, la cual se encuentra muy por debajo de la concentración mínima empleada.

**Cuadro 13. Actividad insecticida del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides***

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	90±6.88*	10±6.88
4,000	75±9.93*	15±8.19
2,000	70±10.51*	5±4.99
1000	20±9.17*	15±8.19
500	60±11.23*	30±10.51*
Control	5±5	10±6.88
Nim	75±9.93*	0.0±ND*
CL <sub>50</sub>	88.92 ppm	

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. CL<sub>50</sub> Concentración letal media. ND (No Determinado).

Por otro lado, la actividad insectistática se observó al prolongarse el periodo de la fase larval 24.5, 23, 16, 3.75, 31.25 días a 5000, 4000, 2000, 1000 y 500 ppm, respectivamente, comparado con el control (22 días, cuadro 14). También se presentó inhibición en el desarrollo al incrementarse la duración pupal 13.35, 8.58, 16.35 y 12.35 días a 500, 1000, 2000 y 4000 ppm, respectivamente, en comparación con el control (9.65 días). El extracto metanólico de tallo de *S. crotalarioides* ocasionó inhibición en la alimentación al disminuir el peso de pupa

35.23, 13.85, 10.12, 14.03 y 10.41% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente, comparado con el control (232.17 mg). Durante el ensayo, las larvas en tratamiento no consumían la dieta y se mantenían muy pequeñas. Se registró el peso de las larvas a los 7 días del ensayo, observando que a las distintas concentraciones empleadas, el peso se encontraba muy por debajo del control (195.33 mg) al reportarse 23.4, 66.06, 15.5, 6.5 y 8 mg a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente.

**Cuadro 14. Actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)	Peso larva a los 7 días (mg)
	Larva	Pupa		
5,000	46.5±2.37*	0.0±ND*	208±1.89*	8±ND*
4,000	45±2.46*	22±0.31*	199.6±10.67*	6.5±0.62*
2,000	38±0.77*	26±0.63*	208.67±2.19*	15.5±1.57*
1000	25.75±1.70*	18.23±0.89*	200±4.95*	66.06±9.14*
500	53.25±2.01*	23±ND*	150.38±7.03*	23.4±6.07*
Control	22±0.71	9.65±0.23	232.17±4.89	195.33±24.6
Nim	34±ND*	7±ND*	183±ND	7.14±1.36*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. ND (No Determinado).

Nagappan (2012) evaluó extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Cassia didymobotrya* (Fabaceae) contra *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), donde el extracto etanólico a 100 ppm presentó mortalidad del 100% en larvas de 2° ínstar y a 1000 ppm se observó el mismo efecto pero en larvas de 3° ínstar. Para el extracto acuoso a 1000 ppm se presentó actividad insecticida (100%) en todos los instares larvales. La CL<sub>50</sub> reportada para el 2° ínstar fue de 52.42 ppm para el extracto etanólico y de 62.66 ppm para el extracto acuoso.

Por otra parte Valencia y col. (2000) evaluaron los extractos metanólicos de hojas y tallos de *Senna stipulaceae* (Fabaceae) contra *Leptinotarsa*

*decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) y *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), donde ningún extracto presentó efecto antialimentario frente a *S. littoralis* pero si contra *L. decemlineata* de 91.2% con extracto de hojas y 84.2% con extracto de tallos.

#### **7.6. Bioensayo del extracto metanólico de las partes aéreas de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda* en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos.**

Dada la actividad insecticida reportada en las partes aéreas del extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides*, se procedió a repetir el ensayo en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-Instituto Politécnico Nacional en el Departamento de Interacciones Planta-Insecto.

#### **Actividad biológica de flor de *Senna crotalarioides*.**

El cuadro 15 muestra que el extracto metanólico de flores de *S. crotalarioides* no presentó efecto insecticida significativo sobre *S. frugiperda* al observarse una mortalidad larval del 5 y 10% a 500 y 5000 ppm, respectivamente, el Nim presentó mortalidad larval del 15%. Se observó una viabilidad pupal del 70, 55, 65, 80 y 90% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente. Al tener estos datos, la concentración letal media no fue considerada por encontrarse muy por debajo de la concentración mínima empleada. En la formación de adultos emergieron el 75, 70, 70, 50 y 60%, a 5000, 4000, 2000, 1000 y 500 ppm, respectivamente, dentro de los cuales existía de manera proporcional una relación macho-hembra y también comparada con el control (cuadro 16).

**Cuadro 15. Actividad insecticida del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	10 ±6.88*	10±6.88
4,000	0 ±0	20±9.18
2,000	0±0	35±10.94
1000	5±ND	45±11.41*
500	0±0	30±10.51
Control	0±0	20±9.18
Nim	15±8.19*	15±8.19

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. ND (No Determinado).

**Cuadro 16. Relación macho y hembra del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Macho	Hembra
5000	33.33	66.66
4000	50	50
2000	57.14	42.85
1000	40	60
500	50	50
Nim	40	60
Control	60	40

Por otra parte, no se presenta actividad insectistática (cuadro 17) al no observarse diferencia estadísticamente significativa en la duración larval y pupal, respecto al control, por lo que no existe inhibición en el crecimiento ni en el desarrollo. Se observó disminución de peso pupal de 8.67, 4.74, 4.39% a 500, 1000 y 5000 ppm, respectivamente, e incremento de 1.5 y 1.12% a 2000 y 4000 ppm, en comparación al control (228.58 mg).

Se registró el peso de las larvas a los 7 días del ensayo, en donde conforme aumentaba la concentración, el peso de la larva también lo hacía, por lo que el extracto provocaba efecto fagoestimulante, al igual que el Nim (84.05 mg) (cuadro 18), excepto a 5000 ppm donde el peso fue menor (36.28 mg) provocando

una inhibición del peso larval de 12.95% comparado con el control (41.68 mg). Pero este efecto fagoestimulante de las larvas se invirtió a los 15 días, donde, los pesos disminuyeron 15.45, 22.09, 28.9, 34.09 y 7.50% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente, comparado con el control (443.59 mg).

**Cuadro 17. Actividad insectistática del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)
	Larva	Pupa	
5,000	22±0*	6.5±0.024	218.53±6.25*
4,000	18±0.53*	7.87±0.54*	231.15±6.16
2,000	19±0.62	7.15±0.28*	232.02±6.08
1000	18.84±0.55*	7.2±0.23*	217.74±5.80*
500	19.5±0.57	7.28±0.40*	206.47±5.63*
Control	20.5±0.52	6.37±0.22	228.58±5.28
Nim	17.33±0.5*	7.88±0.21*	244.5±5.28*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. ND (No Determinado).

**Cuadro 18. Actividad insectistática del extracto metanólico de flor de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Peso	
	7 días	15 días
5,000	36.28 ±2.90*	410.29±25.51*
4,000	75.65±7.23*	292.35±22.67*
2,000	61.5±6.86*	315.06±29.74*
1000	51.94±5.70*	345.61±27.03*
500	49.06±4.59*	375.06±27.15*
Control	41.68±2.81	443.59±21.11
Nim	84.05±8.69*	340.64±27.78*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001.

Derbalah (2012), reportó el extracto metanólico de hojas de 7 especies vegetales, entre ellas, *Cassia senna*, *Bauhinia pupurea*, *Cassia fistula*, pertenecientes a la familia Fabaceae, contra *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae) a concentraciones de 100, 300 y 500 ppm, reportando que a 2 semanas del ensayo, las 3 especies vegetales, provocaban mortalidad del 100%, y donde sólo *C. fistula* a 100 ppm provocó mortalidad del 93%.

### Actividad biológica de hoja de *Senna crotalarioides*.

El cuadro 19 muestra que a 2000 ppm el extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides* ocasionó mortalidad larval sobre *S. frugiperda* del 5% a 4000 y 5000 ppm y de 10% a 2000 ppm. En la formación de adultos, emergieron el 80, 80, 60, 75, y 55% a 5000, 4000, 2000, 1000 y 500 ppm (cuadro 20) en donde a 4000 y 5000 ppm emergieron más machos que hembras, 81.25 y 68.75%, respectivamente.

**Cuadro 19. Actividad insecticida del extracto metanólico de hoja de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	5 ± ND	5 ±ND
4,000	5 ± ND	0±0*
2,000	10 ± 6.88	15 ± 8.19
1000	0 ± 0*	10 ± 6.88
500	0 ± 0	25 ± 9.93
Control	0 ± 0	20 ± 9.18
Nim	10±6.88	35±10.94*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control; p<0.001. ND (No Determinado).

**Cuadro 20. Relación macho y hembra del extracto metanólico de hoja de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Macho	Hembra
5000	68.75	31.25
4000	81.25	18.75
2000	50	50
1000	53.33	46.66
500	54.54	45.45
Nim	70	30
Control	60	40

En el cuadro 21 se muestra que el extracto metanólico, a ninguna concentración provocó un efecto insectistático al no observarse diferencia estadísticamente significativa, respecto al control, por lo que no se presentó inhibición del crecimiento, al no prolongarse la fase larval; también se observó inhibición del desarrollo al no incrementarse la duración, ni se presencié inhibición de la alimentación al no disminuir el peso de la pupa. Se llevó a cabo el registro del peso de larvas a los 7 días del ensayo (Cuadro 22) en donde se observó inhibición en la alimentación al reducirse el peso 45.51, 36.73, 25.95, 37.54 y 25.65% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente, comparado con el control (41.68 mg).

A los 15 días del ensayo (cuadro 22) los pesos de las larvas no mostraron una tendencia, conforme la concentración va en aumento, ya que a 500, 4000 y 5000 ppm existió disminución del peso en un 6.36, 4.71 y 14.41%, respectivamente, y un incremento del mismo de 3.56 y 7.06% a 1000 y 2000 ppm, en comparación con el control (443.59 mg). El Nim, provocó efecto fagoestimulante en ambos registros, al presentar peso de larva a los 7 y 15 días del ensayo, de 55.15 mg y 508.15 mg, respectivamente.

**Cuadro 21. Actividad insectistática del extracto metanólico de hoja de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)
	Larva	Pupa	
5,000	21.37± 0.38*	6.95±0.31*	231.21±6.22
4,000	21.06 ± 0.45*	6.62± 0.33	229.46±8.50
2,000	22 ± 0.0*	6.08± 0.06	226.76±8.25
1000	22 ± 0.0*	5.81± 0.16*	217.24±7.26
500	22 ± 0.0*	6.27± 0.10	221.98±6.95
Control	20.5 ± 0.52	6.38±0.22	228.58±5.28
Nim	17.5±0.49*	7.91±0.35 *	241.13±7.02

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \*

Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ .

**Cuadro 22. Actividad insectistática del extracto metanólico de hoja de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Peso	
	7 días	15 días
5,000	30.99±5.71*	379.65± 42.35
4,000	26.03±3.97*	422.7± 25.32
2,000	30.86±2.76*	474.93 ± 27.38
1000	26.37±2.19*	459.37 ± 14.23
500	22.71±1.77*	415.35 ± 17.75
Control	41.68±2.81	443.59 ± 21.11
Nim	55.15±5.46*	508.15±167.88

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \*

Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ .

Pluempanupat y col. (2012) analizaron los extractos de *Dalbergia olivera* (Fabaceae: Fabales) (diclorometano, acetato de etilo, hexano y metanol), a 8 diferentes concentraciones (62.5-8000 ppm) sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), en donde los cuatro extractos, producen mortalidad; los efectos más significativos se observan al reportar una  $CL_{50}$  en larvas de 3<sup>er</sup> ínstar a las 48 horas del tratamiento, de 153.7 ppm, para el extracto hexánico, 169.9 ppm para el extracto de diclorometano y 163.7 ppm para el extracto de acetato de etilo, siendo

el de menor efecto el extracto el metanólico (255.6 ppm). Sin embargo conforme paso el tiempo, el extracto de diclorometano de *D. olivera*, mostró mayor actividad insecticida al reportarse la menor CL<sub>90</sub> (2848.1 ppm) en comparación con el resto de los extractos, 5048.5, 3581.7 y 3521.7 ppm, para el extracto hexánico, acetato de etilo y metanólico, respectivamente. También se observó un mayor efecto de la toxicidad de este extracto, sobre pupas, al registrarse una CL<sub>50</sub> de 1004.5 ppm comparado con el resto de los tratamientos: 1211.5, 3852.9 y 1525.1 ppm extracto hexánico, metanólico y acetato de etilo, respectivamente. El efecto insecticida del extracto de diclorometano de *D. olivera*, el cual fue el más activo, se lo atribuyen a los compuestos químicos provenientes de él, ya que aislaron 3 isoflavonoides (medicarpin, fromonetin y violanona), los cuales son los responsables de dicha toxicidad sobre *A. aegypti*, siendo el más activo el medicarpin al reportar una CL<sub>50</sub> de 96.91 ppm, a las 48 horas del ensayo.

#### **Actividad biológica de tallo de *Senna crotalarioides*.**

El extracto metanólico de tallo de *S. crotalarioides* no presentó actividad insecticida sobre la larva de *S. frugiperda* al sólo reportarse mortalidad del 5% a 4000 ppm, como consecuencia de la susceptibilidad del individuo, manipulación o estrés, efectos inherentes al extracto (cuadro 23).

En la emergencia de adultos se registró un porcentaje de 80, 55, 70, 45 y 60% a 5000, 4000, 2000, 1000 y 500 ppm respectivamente; estos adultos presentaban deformidades en sus alas y algunos no terminaban de emerger (cuadro 24).

**Cuadro 23. Actividad insecticida del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Mortalidad (%)	
	Larva	Pupa
5,000	0 ±	15 ± 8.19
4,000	5 ± ND*	30 ± 10.51
2,000	0 ± 0	25 ± 9.93
1000	0 ± 0	40 ± 11.24*
500	0 ± 0	30 ± 10.51
Control	0 ± 0	20 ± 9.18
Nim	15 ± 8.19*	35 ± 10.94

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \*

Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ . ND (No Determinado).

**Cuadro 24. Relación macho y hembra del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Macho (%)	Hembra (%)
5000	43.75	56.25
4000	54.54	45.45
2000	78.57	21.42
1000	66.66	33.33
500	33.33	66.66
Nim	91.66	8.33
Control	60	40

En el cuadro 25 se observa la actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de *S. crotalarioides*, sobre *S. frugiperda*, donde la duración larval se vió disminuida 1.39, 1.55, 2 y 3.55 días a 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente, comparado con el control (20.5 días). Durante el ensayo se observó que los primeros días, las larvas eran fagoestimuladas por el extracto al incrementar su peso a los 7 días del ensayo (cuadro 26), 1.11, 32.67, 21.79, 23.15, 48.63 mg a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente, comparado con el control (41.68 mg). Al registrarse el peso de las larvas a los 15 días del ensayo y a pesar de que no siguen una tendencia en referencia a la

concentración, se observó que estos disminuyeron 22.14, 18.32, 26.74, 25.03 y 30.97% a 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm, respectivamente, comparado con el control (443.59 mg) (cuadro 26). La duración pupal de *S. frugiperda*, presentó incremento de 1.13, 2.13, 2.51 días a 200, 4000 y 5000 ppm, a diferencia del control (6.37 días) y en el peso pupal no se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos.

Los efectos que provocó el extracto metanólico de tallos de *S. crotalarioides*, sobre *S. frugiperda*, nos habla de la capacidad que tiene el gusano cogollero a adaptarse como respuesta a la resistencia que tiene que desarrollar frente a compuestos tóxicos que se encuentran en el alimento que consumen, y que es proveniente de distintas especies vegetales.

**Cuadro 25. Actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Duración (d)		Peso pupal (mg)
	Larva	Pupa	
5,000	16.95± 0.32*	8.88± 0.33*	234.33 ±6.20
4,000	18.50 ± 0.5*	8.5 ±0.45*	218.21 ±9.97
2,000	18.95± 0.59*	7.5 ± 0.46*	218.65 ±6.33
1000	19.11 ± 0.56	6.64± 0.60	224.63 ±5.61
500	20.90 ± 0.55	6.46 ±0.25	222.25 ± 7.53
Control	20.5 ± 0.52	6.37 ± 0.22	228.58 ± 5.28
Nim	17.48± 0.36*	8.33±0.30*	219.75±7.16

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \*

Diferencia significativa respecto al control; p<0.001.

**Cuadro 26. Actividad insectistática del extracto metanólico de tallo de *Senna crotalarioides* sobre *Spodoptera frugiperda***

Concentración (ppm)	Peso	
	7 días	15 días
5,000	90.31 ± 8.44*	306.21± 23.03*
4,000	64.83 ± 5.85*	332.57± 20.58*
2,000	63.47 ± 5.53*	324.96± 24.38*
1000	74.35± 5.46*	362.33 ± 28.08*
500	42.79 ± 8.86	345.35 ± 24.21*
Control	41.68 ± 2.81	443.59± 21.11
Nim	70.44±4.90*	288.89 ±7.74*

Resultados son el promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. \* Diferencia significativa respecto al control;  $p < 0.001$ .

Tripathi y col. (2014) aislaron inhibidor de tripsina de *Senna tora* y la emplearon contra larvas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), donde observaron que esta proteína inhibía eficazmente las proteasas intestinales de esta plaga polífaga; al aplicar el inhibidor en la dieta, ésta causó un crecimiento anómalo, una mortalidad del 28%, colores anormales sobre el cuerpo de la plaga así como la prolongación en el inicio de la fase de pupa.

### **7.7. Fraccionamiento del extracto metanólico de hojas de *Senna crotalarioides*.**

Se obtuvieron 132 fracciones de la separación cromatográfica del extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides*, a cada una ellas se les realizó la técnica de cromatografía en capa fina para encontrar similitudes y juntarlas de acuerdo al patrón cromatográfico. En los siguientes números de fracciones, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 22, 24, 27, 28, 29, 31, 32 y 33 (cuadro 24), se formaron sólidos color verde pardo, sin embargo aún requieren un proceso de lavado, el cual no fue realizado en el presente estudio debido a la baja actividad biológica que presentó el extracto metanólico de hojas de *S. crotalarioides* en el segundo ensayo, por lo cual no se obtuvo el compuesto activo del mismo.

**Cuadro 27. Fracciones del extracto metanólico de hojas de *Senna crotarioides***

<b>Número de fracción</b>	<b>Mezcla de disolvente</b>	<b>Porcentaje (%)</b>	<b>Fracción obtenida</b>
1	CHCl <sub>3</sub>	100	1-4
2	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	6	5-11
3	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	6	12
4	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	6	13
5	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	6-8	14-17
6	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	8	18
7	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	8-10	19-21
8	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	10	22
9	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	10-22	23-25
10	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	12	26
11	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	12	27-30
12	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	14-16	31-34
13	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	16-18	35-38
14	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	18-26	39-46
15	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	26-28	47-48
16	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	28-30	49-51
17	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	32-36	52-56
18	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	36-40	57-60
19	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	40	61
20	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	42	62-64
21	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	42-44	65-69
22	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	45-47	70-74
23	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	47	75
24	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	48	76-77

25	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	50-53	78-82
26	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	53-56	83-84
27	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	56-64	85-92
28	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	64-68	93-96
29	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	68-78	97-106
30	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	78-80	107-108
31	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	80-82	109-111
32	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	84	112-113
33	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	86-90	114-119
34	CHCl <sub>3</sub> - MeOH	92-94	120-122
35	CHCl <sub>3</sub> - MeOH; MeOH	94-100	123-129
36	MeOH	100	130-131
37	EtOH	100	132

CHCl<sub>3</sub> (Cloroformo)

MeOH (Metanol)

EtOH (Etanol)

### **7.8. Pruebas fitoquímicas del extracto clorofórmico de hojas de *Senna crotalarioides***

El análisis fitoquímico del extracto clorofórmico de *S. crotalarioides* (cuadro 28), reveló la presencia de alcaloides, cumarinas, triterpenos, esteroides y saponinas, los cuales pueden ser responsables de la actividad biológica que presentó frente a *S. frugiperda*.

**Cuadro 28. Pruebas fitoquímicas del extracto clorofórmico de hojas de *Senna crotalarioides***

Prueba	Reactivos	Extracto clorofórmico de hojas de <i>S. crotalarioides</i>
<b>Alcaloides</b>	Draggendorf	+
	Wagner	+
<b>Cumarinas</b>	NaOH	+
<b>Flavonoides</b>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-
<b>Triterpenos y esteroides</b>	Liebermann-Buchard	+
<b>Derivados antracénicos libres</b>	NaOH	-
	CHCl <sub>3</sub> y H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-
<b>Saponinas</b>		+
<b>Taninos</b>	FeCl <sub>3</sub>	-

Keller y col. (2012), reportaron diversos metabolitos de extractos de hojas de *Senna macranthera*, la cual contiene cumarinas, saponinas, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos, triterpenoides, antranas y esteroides que le confieren propiedades antimicrobianas, antioxidante, antiinflamatoria, leishmanicida y laxante. Por otra parte Matulevich-Peláez y col. (2017) analizaron el extracto etanólico de hojas de *Senna reticulata*, donde reportaron que posee flavonoides, taninos, quinonas, alcaloides, terpenos y glucósidos cardiótónicos que le confieren capacidad antioxidante.

**7.9. Identificación de los componentes mayoritarios del extracto clorofórmico de *Senna crotalarioides* por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS).**

Se identificaron 24 compuestos (cuadro 29) que corresponden al 100% de la composición química total del extracto clorofórmico de hojas *S. crotalarioides*, encontrándose entre ellos, ácidos grasos, terpenos, aldehídos, ésteres, alcoholes

alifáticos primarios, de los cuales los mayoritarios fueron 1-Octacosanol ( $C_{28}H_{58}O$ )(63.245%) (Figura 3) y 1-Triacontanol ( $C_{30}H_{62}O$ ) (9.472%) (Figura 4).

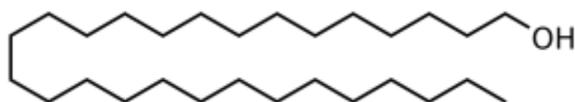
**Cuadro 29. Composición química del extracto clorofórmico de hojas de *Senna crotalarioides***

	<b>Tiempo de retención</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Área %</b>	<b>Índice de retención</b>
1	13.523	Neofitadieno	1.551%	1774
2	13.637	Ácido mirístico	0.360%	1788
3	13.961	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol	0.418%	2045
4	15.587	Ácido palmítico	5.281%	1987
5	16.759	Fitol	0.507%	2086
6	17.087	Ácido (9Z,12Z)-Octadecadienoico	0.140%	2202
7	17.125	Ácido (9E)-Octadecenoico	0.075%	2194
8	17.167	Ácido $\alpha$ -Linolenico, derivado TMS	0.369%	2210
9	17.333	Ácido esteárico , derivado TMS	0.694%	2186
10	19.921	Ftalato de diisooctilo	0.262%	2704
11	20.865	Heptacosano	0.279%	2705
12	21.874	Escualeno	0.815%	2914
13	22.256	Tetratetracontano	0.589%	4395
14	22.575	1-Hexacosanol	1.638%	2890
15	23.296	Octacosanal	5.209%	2993
16	24.013	1-Octacosanol	63.245%	3089
17	24.194	$\alpha$ -Tocoferol	0.533%	3226
18	24.724	Trimetilsilil octacosanoato	0.475%	3180

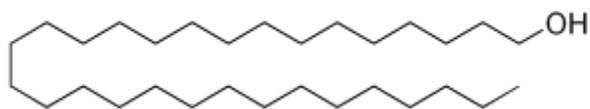
19	24.848	Triacontanal	0.857%	3192
20	24.848	Estigmasterol	1.045%	2797
21	25.706	1-Triacontanol	9.472%	3287
22	26.225	$\beta$ -Sitosterol,	4.549%	2789
23	26.871	Estigmast-5-ene, 3 $\beta$ -(trimetilsiloxi)-, (24S)-	1.095%	2789
24	29.507	Tris (2,4-di-tert-butilfnil) fosfato	0.543%	3582

Xue y col., (2012) reportaron que el 1-Octacosanol posee un alto peso molecular y es el mayor componente extraído de la caña de azúcar, aporta beneficios a la salud ya que regula niveles de colesterol y mejora el rendimiento atlético. El 1-Triacontanol es conocido comúnmente como una hormona vegetal, la cual promueve eficientemente el crecimiento y rendimiento de diversas especies de plantas, incluidas, arroz, café, tomate, menta silvestre y *Senna* (Perveen y col., 2012).

Comparando con otros autores, Gómez y col., (2013) analizaron la composición química del aceite esencial de las hojas de *Adesmia bijuga* (Fabaceae) dentro del cual reportaron 29 componentes, siendo mayoritarios 4 sesquiterpenos, espatulenol (24.3%), cadaleno (9.6%),  $\alpha$ -copaeno (8.5%) y ledol (8%); por otra parte Sermakkani y col., (2012) identificaron 17 compuestos químicos del extracto metanólico de *Cassia itálica* (Fabaceae), donde el mayoritario fue 3-O-Metil-D-Glucosa (48.37%) sin embargo al igual que en nuestro trabajo, también reportaron la presencia de fitol (1.64%) y escualeno (2.92%), los cuales se han usado como antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobiales y pesticidas.



**Figura 3. Estructura química de 1-octacosanol**



**Figura 4. Estructura química de 1-trioctanol**

## 8. CONCLUSIONES

El extracto clorofórmico de hojas y el extracto metanólico de las partes aéreas de *S. crotalarioides*, presentaron actividad insecticida e insectistática contra *S. frugiperda*, siendo el extracto clorofórmico el de mayor actividad.

El análisis fitoquímico del extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides*, reveló la presencia de alcaloides, cumarinas, triterpenos, esteroides y saponinas; por lo que la hipótesis se rechaza, al no obtener una prueba positiva para antraquinonas en el extracto de mayor actividad.

Se identificaron 1-Octacosanol ( $C_{28}H_{58}O$ ) y 1-Triacontanol ( $C_{30}H_{62}O$ ) como compuestos mayoritarios del extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides*.

El extracto clorofórmico de hojas de *S. crotalarioides* puede ser considerado como una alternativa para el manejo de *S. frugiperda*.

## 9. REFERENCIAS

- Alatorre-Rosas R., Bravo-Mojica H., Leyva-Vásquez J.L. y Huerta P. A. 2014. *Manejo Integral de Plagas*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Estado de México. <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Manejo%20integrado%20de%20plagas.pdf>; Fecha de consulta: 22-XI-2015.
- Alfonso M. 2002. Los plaguicidas botánicos y su importancia en la agricultura orgánica. *Agricultura Orgánica*. 2: 26-30.
- Awal M.A., Syed-Ashrafuzzaman, Ekramul-Haque M. 2009. Studies on Antibacterial Activity and Brine shrimp Toxicity of Leaf Extract of *Cassia grandis*. *Bangladesh Journal of Medical Microbiology*. 03(01): 17-19.
- Bahena-Juárez F., De Lange E., Farnier K., Cortéz-Mondaca E., Sánchez Martínez R., García-Pérez F., Miranda-Salcedo M., Degen T., Gaudillat B., Aguilar-Romero R. 2010. Parasitismo en gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el centro de México. *Proceedings. XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico*. Uruapan, Michoacán, México: 204-209.
- Barrese-Pérez Y., Hernández-Jiménez M.E., García-Pulpeiro O. 2005. Desarrollo de una técnica analítica para cuantificar las antraquinonas presentes en la *Senna alata* (L.) Roxb. (Guacamaya francesa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 10(3-4): 1-7.
- Baskar K., Ignacimuthu S. 2012. Antifeedant, larvicidal and growth inhibitory effects of ononitol monohydrate isolated from *Cassia tora* L. against *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemosphere*. 88: 384-388.
- Behle R. W., McGuire M. R., Gillespie R. L. y Shasha B. S. 1997. Effects of alkaline gluten on the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology*. 90(2): 354-360.

- BenJannet H., Skhiri F., Mighri Z., Simmonds M. S. J., Blaney W. M. 2001. Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera littoralis* larvae. *Industrial Crops and Products*. 14: 213-222.
- Bergvinson D.J., y Kumar H. 1997. Cría masiva de insectos en el laboratorio de entomología del CIMMYT (*Diatrea grandiocella*, SWCB; *D. saccharalis*, SBC; *Spodoptera frugiperda*, FAW y *Helicoverpa zea*, CEW). In: Annual Research Progress Report 1996, Maize Entomology. CIMMYT, México. Appendix 7.
- Bozzi A., Perrin C., Austin S., Arce-Vera F. 2006. Quality and authenticity of comercial aloe vera gel powders. *Food Chemistry*. 103: 22-30.
- Bugguide. 2016. Species *Spodoptera frugiperda*. [Consultado 2016, Febrero 16]. Disponible en: <http://bugguide.net/node/view/40787>.
- Bustamante-Botero J.E., Carrascal L.M. 2010. Estandarización de la técnica espectrofotométrica (UV-VIS) para la cuantificación de antraquinonas presentes en productos a base de *Aloe vera*. Trabajo de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia: 1-68.
- Carvajal-Rojas L., Hata-Uribe Y., Sierra-Martínez N., Rueda-Niño D. 2009. Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnus schultesiana* Krukoff). *Revista Colombia Forestal*. 12: 161-170.
- Casmuz A., Juárez M.L., Socías M.G., Murúa M.G., Prieto S., Medina S., Willink E., Gastaminza G. 2010. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. 69(3-4):209-231.
- Cortez-Mondaca E., Rodríguez-Cota F.G. 2012. Manejo Integrado de Gusano Cogollero basado en el aprovechamiento de enemigos naturales en maíz, en Sinaloa, México. México: Talleres Gráficos de Editorial Panorama.[Consultado 2016, Febrero 14]. Disponible en: [sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/\\_29.../5573.pdf](http://sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/_29.../5573.pdf).

- De Omena M.C., Navarro D.M.A.F., de Paula J.E., Luna J.S., Ferreira de Lima M.R., Sant'Ana A.E.G. 2007. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *Bioresource Technology*. 98: 2549-2556.
- Del Rincón-Castro M.A., Méndez-Lozano J., Ibarra J.W. 2006. Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctidae). *Folia Entomológica Mexicana*. 45(2): 157-164.
- Derbalah A.S. 2012. Efficacy of some botanical extracts against *Trogoderma granarium* in wheat grains with toxicity evaluation. *The Scientific World Journal*. 1-9.
- Devine G.J., Eza D., Oigusuku E. Y Furlong M.J. 2008. Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25(1): 74-100.
- Flores-Hueso R. 2000. Efecto de la variedad de maíz sobre el desarrollo y susceptibilidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis*. Tesis de Maestría en Ciencias, área: Ciencias agrícolas y forestales. Universidad de Colima. México: 1-54.
- García-Lara S., Bergvinson D.J. 2007. Programa integral para reducir pérdidas poscosecha en maíz. *Agricultura Técnica en México*. 33(2): 181-189.
- García-Rodríguez R.V., Zavala-Sánchez M.A., Susunaga-Notario A.C., Pérez-Gutiérrez S. 2011. Anti-inflammatory evaluation and antioxidant potential of *Senna crotalarioides* and *Penstemon roseus*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas medicinales y aromáticas*. 10(1): 23-29.
- García-Gutiérrez C., González-Maldonado M.B. Y Cortez-Mondaca E. 2012. Uso de enemigos naturales y biorracionales para el control de plagas de maíz. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*. 8(3): 57-70.
- Gómez P., Sotes G., Hahn S., Becerra K. y San Martín J. 2013. Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Adesmia bijuga* Phil., Fabaceae, one critically endangered species in central Chile. *Boletín*

- Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 12(6): 622-626.
- González-Jiménez F.E. 2010. Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispánica* L.), mediante electroforesis capilar. Tesis de maestría en ciencias en alimentos. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.: 1-113.
- González-Castillo M., Aguilar C.N., Rodríguez-Herrera R. 2012. Control de insectos- plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: Retos y perspectivas. 4(8): 42-55.
- Isman M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603-608.
- Jalali M., Hosseininaveh V. e Imani S. 2014. Inhibitory activity of protein aceousinh inhibitors from *Cassia angustifolia* and *Trigonella foenum-graecum* seeds against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): interaction of the inhibitors and the insect digestive enzymes. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 48(3): 268-276.
- Keller H. A., Hurrell J.A., Vanni R.O. y Delucchi G. 2012. *Senna macranthera* (Leguminosae), una especie ornamental naturalizada en la Argentina. *Bonplandia*. 21(1): 55-60.
- Kumar A.N., Murugan K., Madhiyazhagan P. 2013. Integration of botanicals and microbials for management of crop and human pests. *Parasitology Research*. 112(1): 313-325.
- Lara-Cortés E., Martín-Belloso O., Osorio-Díaz P., Barrera-Necha L.L., Sánchez-López J.A. y Bautista-Baños S. 2014. Actividad antioxidante, composición nutrimental y funcional de flores comestibles de dalia. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 20(1): 101-116.
- León-García I., Rodríguez-Leyva E., Ortega-Arenas L.D. Y Solís-Aguilar J.F. 2012. Insecticide susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)

- (Lepidoptera: Noctuidae) associated with turfgrass at Quintana Roo, México. *Agrociencia*. 46: 279-287.
- Lizana-Rojas D.R. 2005. Elaboración y evaluación de extractos del fruto de *Melia azedarach* L. como insecticida natural. Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero Forestal. Universidad de Chile. Santiago de Chile: 12-15.
- Mansour S.A., Bakr R.F.A., Mohamed R.I. y Hasaneen N.M. 2011. Larvicidal activity of some botanical extracts, commercial insecticides and their binary mixtures against the Housefly, *Musca domestica* L. *The Open Toxinology Journal*. 4: 1-13.
- Mareggiani G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Manejo integrado de plagas*. (60): 22-30.
- Matulevich- Peláez J.A., Castrillón-Cardna W.F., Chitiva-Chitiva L.C. 2017. Estudio fitoquímico y evaluación de la capacidad antioxidante de *Senna reticulata* obtenidas en la región andina colombiana. *Revista Científica*. 29(2): 149-163.
- Montes-Belmont R. 2009. Densidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Micología*. 29: 73-79.
- Murugan K., Aarthi N., Kovendan K., Panneerselvam C., Chandramoham B., Mahesh-Kumar P., Amerasan D., Paulpandi M., Chandirasekar R., Dinesh D., Paulpandi M., Chandirasekar R., Dinesh D., Suresh U., Subramaniam J., Higuchi A., Alarfaj A. A., Nicoletti M., Mehlhorm H. Benelli G. 2015. Mosquitocidal and antiplasmodial activity of *Senna occidentalis* (Cassiae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) from Maruthamalai hills against *Anopheles stephensi* and *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Research*. 114(10): 3657-3664.
- Nagappan R. 2012. Evaluation of aqueous and ethanol extracto of bioactive medicinal plant, *Cassia didymobotrya* (Fresenius) Irwin & Barneby against

- immature stages of filarial vector, *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2(9): 707-711.
- Nava-Pérez E., García-Gutiérrez C., Camacho-Baéz J.R., Vázquez-Montoya E.L. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable. 8(3):17-29.
- Pérez D.D., Iannacone J. 2008. Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. 67(1-2):41-48
- Pérez. S., García R., Pérez C., Rodríguez R. y Zavala M. 2009. Anti-inflammatory Properties of *Salvia connivens*. Medicinal and aromatic plant science and biotechnology. 3(1): 52-55.
- Perveen S., Shahbaz M. y Ashraf M. 2014. Is pre-sowing seed treatment with triacontanol effective in improving some physiological and biochemical attributes of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. Journal of Applied Botany and Food Quality. 85:41-48.
- Pluempanupat S., Kumrungsee N., Pluempanupat W., Ngamkitpinyo K., Chavasiri W., Bullangpoti V. Y Koul O. 2012. Laboratory evaluation of *Dalbergia oliveri* (Fabaceae: Fabales) extracts and insolated isoflavonoids on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquitoes. Industrial Crops and Products. 1-6.
- Ramos-López L.M.A., Pérez G.S., Rodríguez-Hernández C., Guevara-Fefer P, Zavala-Sánchez M.A. 2010. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). African Journal of Biotechnology. 9: 1359-1365.
- Rivero-Martínez R., Rodríguez-Leyes E.A., Menéndez-Castillo R., Fernández-Romero J.A., del Barrio-Alonso G. Y González-Sanabria M.A. 2002. Obtención y caracterización preliminar de un extracto de *Aloe vera* L. con actividad antiviral. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 7(1):32-38.

- Rocha-Estrada J.G., García-Carreño F.L. 2008. Insecticidas clásicos y biopesticidas modernos: avances en el entendimiento de su mecanismo de acción. *Biotecnología*. 12(1): 50-62.
- Rodríguez C. Vendramim J. 1996. Toxicidad de extractos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Manual Integral de Plagas*. 42: 14-22.
- Rossetti M.R., Defago M.T., Carpinella M.C., Palacios S.M. y Valladares G. 2008. Actividad biológica de extractos de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. 67: 115-125.
- SHCP- FND. 2014. Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP) y Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero (FND). Panorama del maíz. [Consultado 2016, Febrero 16]. Disponible en: [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Ma%C3%ADz%20\(may%202014\).pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Ma%C3%ADz%20(may%202014).pdf).
- SAGARPA. 2013. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Agricultura de autoconsumo. [Consultado 2016, Febrero 16] Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/oaxaca/Paginas/Autoconsumo2013.aspx>.
- SAGARPA. 2014. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Informe de evaluación de impacto. Proyecto estratégico de producción de maíz. [Consultado 2016, Febrero 16]. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/guerrero/Documents/Comit%C3%A9%20T%C3%A9cnico%20Estatad%20de%20Evaluaci%C3%B3n/2015/INFORME%20EVALUACION%20PEPMA%202014.pdf>.
- Semarakkani M. y Thanapandian V. 2012. GC-MS analysis of *Cassia itálica* leaf metanol extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 5(2): 90-94.

- Sepúlveda-Jiménez G., Porta-Ducoing H., Rocha-Sosa M. 2004. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 355-363.
- Soto-Alcalá J. 2008. Caracterización molecular de aislamientos de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y evaluación de su toxicidad sobre gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Medio Ambiente. Instituto Politécnico Nacional. Sinaloa, México: 1-87.
- Tripathi V.R., Sahasrabudhe A. A., Kumar S. y Garg S.K. 2014. Purification and characterization of a trypsin inhibitor from *Senna tora* active against midgut protease of podboder. *Process Biochemistry*. 49: 347-355.
- Tropicos. 2015. Missouri Botanical Garden. [Consultado 2015, Noviembre 07]. Disponible en: <http://tropicos.org/Name/13041300>.
- Tropicos. 2016. Missouri Botanical Garden. [Consultado 2016, Febrero 116]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/25510055>.
- UNAM. 2015. Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México. Colecciones Biológicas. [Consultado 2015, Noviembre 22]. Disponible en: <http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:MEXU:LEG1172009>.
- Valencia E., Valenzuela E., Barras E., Hernández M., Lazo C., Gutiérrez C., González-Coloma A., González A.G., Bermejo J. 2000. Estudio fitoquímico y actividad antialimentaria de *Senna stipulaceae*. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*. 45(2): 1-7.
- Vargas-Leandro J.A., Durán-Román L., Carranza-Rodríguez V., Víquez-Zamora A., Villalba-Velásquez V. 2010. Colecta, identificación y multiplicación de virus entomopatógenos en el género *Spodoptera* presente en el cultivo de maíz. *Tecnología en Marcha*. 24(1):17-24.

- Vázquez-Luna A., Pérez-Flores L., Díaz-Sobac R. 2007. Biomoléculas con actividad insecticida: Una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 5(4): 306-313.
- Vélez-Serna M., Villa-Pulgarín N. 2012. Identificación y cuantificación de antraquinonas y cromonas en plantas de Aloe vera cultivadas en municipios de Risaralda por cromatografía líquida de alta eficiencia. Trabajo de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia: 1-101.
- Venkatesan R., Ravindran J, Eapen A. y William J. 2014. Insecticidal and growth regulating activity of crude leaf extracts of *Cassia occidentalis* L. (Caesalpinaceae) against the urban malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 4(Suppl 2): S578- S582.
- Villa-Castorena M.M., Catalán-Valencia E.A. 2004. Determinación de estadios larvales de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) para la construcción de un modelo de predicción. *Folia Entomológica Mexicana*. 43(3): 307-312.
- Xue X., Chen L., Zhou J., Wu L., Li Y., Chen F., Zhang J. y Zhao J. 2012. UPCL-ELSD Determination of 1-Octacosanol in raw material and health products. *Cromatographia*. 75: 165-168.
- Yagi S., El Tigania S., Ali M., Elkhidir I. y Mohamed A.M.A. 2013. Chemical constituents and Insecticidal Activity of *Senna italica* Mill. from the Sudan. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 9(2): 146-151.
- Young-Su J., Bong-Rae B., Young-Cheol Y., Moo-Key K. y Hoy-Seon L. 2002. Larvicidal activity of leguminous seeds and grains against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 18(3): 210-213.