

Revisar tamaño de
escudo



centrar
como en la
portada.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

“ACTIVIDAD DE EXTRACTOS DE VAINA *Acaciella angustissima* (Fabaceae) CONTRA *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

PRESENTA

LUIS EDUARDO GARCÍA VANEGAS

DIRIGIDA POR

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

SINODALES

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

DIRECTOR

Dr. RAMÓN G. GUEVARA GONZÁLEZ

SINODAL

Dr. VÍCTOR PÉREZ MORENO

SINODAL

Dr. MIGUEL ÁNGEL RICO RODRÍGUEZ

SINODAL



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ACTIVIDAD DE EXTRACTOS DE VAINA *Acaciella angustissima* (Fabaceae) CONTRA *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

PRESENTA

LUIS EDUARDO GARCÍA VANEGAS

DIRIGIDA POR

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2019.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“ACTIVIDAD DE EXTRACTOS DE VAINA *Acaciella angustissima* (Fabaceae) CONTRA *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

PRESENTA

LUIS EDUARDO GARCÍA VANEGAS

DIRIGIDA POR

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

SINODALES

Dr. MIGUEL ANGEL RAMOS LÓPEZ

DIRECTOR

Dr. RAMÓN G. GUEVARA GONZÁLEZ

SINODAL

Dr. VÍCTOR PÉREZ MORENO

SINODAL

Dr. MIGUEL ÁNGEL RICO RODRÍGUEZ

SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Descripción de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	1
1.1.1 Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	2
1.1.1.1 Huevo.	2
1.1.1.2 Larva o gusano.	3
1.1.1.3 Pupa.	4
1.1.1.4 Adulto.	4
1.2 Situación del maíz en México.	5
1.2.1 Daño de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	5
1.3 Manejo de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	6
1.3.1 Manejo Integrado de Plagas (MIP).	6
1.3.1.1 Control natural.	7
1.3.1.2 Control biológico.	7
1.3.1.3 Control cultural.	8
1.3.1.4 Control químico.	9
1.3.1.5 Control alternativo.	10
1.4 Agricultura orgánica en México.	11

1.5	Plaguicidas orgánicos.	11
1.5.1	Breve historia de los plaguicidas de extractos vegetales.	12
1.5.2	Plaguicidas de extractos vegetales.	13
1.6	Metabolitos secundarios (MS).	14
1.6.1	Características de los metabolitos secundarios	15
1.6.2	Metabolitos secundarios como parte del control de plagas.	16
1.6.3.	Tipos de acción insecticida desarrollada por los insecticidas de origen vegetal.	16
1.7	Árbol/arbusto de timbe (<i>Acaciella angustissima</i>).	17
1.7.1	Generalidades de <i>Acaciella angustissima</i> .	17
1.7.2	Propiedades bioactivas de <i>Acaciella angustissima</i> .	18
2.	HIPÓTESIS	20
3.	OBJETIVOS	21
3.1.	General.	21
3.2.	Específicos.	21
4.	METODOLOGÍA	22
4.1.	Materiales.	22
4.2.	Reactivos.	22
4.4.	Procedimiento	23
4.4.1.	Sitio de estudio.	23
4.4.2.	Cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> en condiciones de laboratorio.	23
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1.	Rendimiento de los extractos metanólico y hexánico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	30
5.2.	Pruebas fitoquímicas del extracto	31

5.3. Actividad insecticida y juvenomimética del extracto metanólico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i> .	35
5.4. Actividad insecticida y juvenomimética del extracto hexánico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i> .	39
6. CONCLUSIONES	46
7. REFERENCIAS	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Clasificación taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	1
2. Características generales de algunos parasitoides utilizados contra <i>Spodoptera frugiperda</i> .	8
3. Ventajas y desventajas de utilizar un control químico de plagas.	10
4. Ventajas y desventajas del uso de plaguicidas botánicos en relación a los sintéticos.	14
5. Clasificación taxonómica de <i>Acaciella angustissima</i> .	18
6. Ingredientes para la dieta artificial de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	24
7. Rendimientos en porcentaje peso – peso de extractos metanólicos y hexánicos de distintas especies de la familia Fabaceae.	30
8. Resumen de las pruebas fitoquímicas realizadas a los extractos metanólico y hexánico de <i>Acaciella angustissima</i> .	31
9. Actividad insecticida por extracto metanólico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	36
10. Actividad juvenomimética por tratamiento con extracto metanólico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	38
11. Actividad insecticida del extracto hexánico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	41
12. Actividad juvenomimética por tratamiento con extracto hexánico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ciclo biológico del gusano cogollero <i>Spodoptera frugiperda</i> .	2
2. Ovipostura y huevos de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	3
3. Larvas recién nacidas y larva en cuarto instar de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	3
4. Pupa de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	4
5. Adulto macho y adulto hembra de <i>Spodoptera frugiperda</i> .	4
6. Daño por larvas de <i>Spodoptera frugiperda</i> en maíz.	6
7. Principales especies parasitoides de <i>Spodoptera frugiperda</i> . A) <i>Telonomus sp.</i> ; B) <i>Eupectrus plathypenae</i> ; C) <i>Chelonus insularis</i> ; D) <i>Rogas sp.</i> ; E) <i>Archytas marmoratus</i> .	7
8. Eventos de activación de metabolismo secundario en plantas.	15
9. Árbol de timbe. Acercamiento al árbol de timbe	17
10. Vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	19
11. Fases de la cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> : 1) Fase de huevecillo; 2) Fase larval; 3) Fase pupal; 4) Fase adulta	25
12. Equipo de extracción por reflujo utilizado para obtener los extractos de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	26
13. Prueba para taninos con cloruro férrico.	32
14. Clasificación de taninos.	33
15. Gráfico sobre la tendencia en la relación macho - hembra con extracto metanólico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	39
16. Gráfico sobre la tendencia en la relación macho - hembra con extracto hexánico de vaina de <i>Acaciella angustissima</i> .	45

RESUMEN

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las plagas que más pérdidas provoca a los productores de maíz en México. El control químico sintético es el más usado para tratar de contrarrestar este problema, sin embargo su uso causa problemas ambientales y de salud; pero existen alternativas menos exploradas e igual de eficientes como el uso de extractos vegetales. En este trabajo se evaluó la actividad del extracto metanólico (EM) y del extracto hexánico (EH) de vainas de *Acaciella angustissima* (Fabaceae) sobre *S. frugiperda*. Los resultados mostraron que ambos extractos presentaron actividad insecticida. Para EH la concentración letal media (CL₅₀) fue de 1377.85 ppm. En cuanto a EM la CL₅₀ fue de 5480.23 ppm. Por otro lado también se pudo observar pero sólo con EH ya que con este extracto se observó efecto sobre la duración larval con un aumento de 23.17% a partir de 1000 ppm con respecto al control negativo. El efecto se mostró de igual manera con EH sobre el peso de la larva a los 20 días, en que en 1000 ppm hubo una disminución de 62.07% con respecto al control negativo. Por tanto, se puede decir que de los dos extractos utilizados, EH fue el mejor ya que tuvo una CL₅₀ baja y mostró actividad juvenomimética a partir de 1000 ppm.

1. ANTECEDENTES

1.1 Descripción de *Spodoptera frugiperda*.

El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) es una de las plagas más importantes del maíz *Zea mays* (Poaceae), en México. En el Cuadro 1 se menciona su clasificación taxonómica. Éste es uno de los pocos insectos que se dispersan y se reproducen en todo el continente americano (Abbas y col. 1989).

El gusano cogollero del maíz es un insecto polífago que ocasiona numerosas pérdidas en diversos cultivos; esta característica junto a su poder de aclimatación a diferentes condiciones permite que su distribución geográfica sea amplia (Clavijo y Pérez, 2000).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Spodoptera frugiperda*.

Dominio	Eukarya
Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Clase	Insecta
Orden	Lepidoptera
Familia	Noctuidae
Género	<i>Spodoptera</i>
Especie	<i>S. frugiperda</i>

Cuenta con alrededor de 186 hospederos, repartidos en 42 familias. Entre los hospederos más citados, 35.5% pertenece a la familia Poaceae y el 11.3% a la familia Fabaceae. Del total de plantas, 64% se hallaron en Norteamérica y Centroamérica, siendo las especies más citadas: maíz, sorgo, cacahuate, grama bermuda, caña de azúcar y arroz (Cazmuz y col., 2010).

1.1.1 Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda*.

El ciclo completo, Figura 1, puede durar entre 30 a 70 días, siendo influenciado por la temperatura ambiental, de tal manera que se acorta en condiciones de mayor temperatura y se alarga cuando la misma es baja (Angulo, 2000).



Figura 1. Ciclo biológico del gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (FAO, 2017).

1.1.1.1 Huevo.

Los huevos son de color blanco perla (Figura 2, derecha), son puestos en grupos y protegidos con escamas y secreciones bucales que tienen como función proteger contra factores ambientales y enemigos naturales, miden aproximadamente 0.4 mm de diámetro y 0.3 mm de altura. Una hembra puede poner de 100 a 200 huevos por ovipostura y hasta 1500 en su vida fértil, y ovipositan en el haz y en el envés de las hojas en las primeras horas de la noche. Se muestra un ejemplo de ovipostura de gusano cogollero del maíz en la Figura 2 a la izquierda (Capinera, 2016).

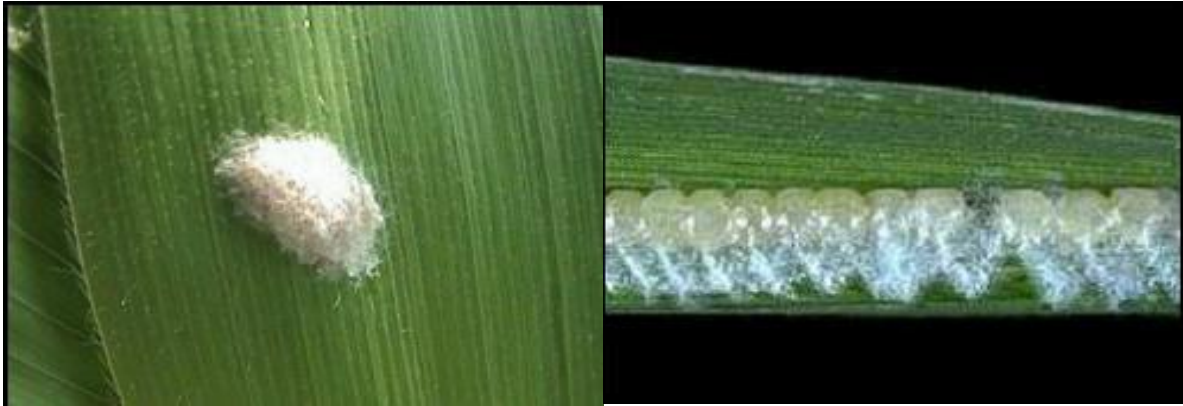


Figura 2. Ovipostura (izquierda) y huevos (derecha) de *Spodoptera frugiperda* (Negrete y Morales, 2003).

1.1.1.2 Larva o gusano.

El color de las larvas varía, como las recién eclosionadas (Figura 3, izquierda), aunque en general son de color pardo oscuro, con tres rayas pálidas longitudinales (Figura 3, derecha). En la parte frontal de la cabeza se distingue una línea con forma de “Y” invertida color blanca. Las larvas pasan por seis o siete estadios y llegan a medir hasta 35 mm de longitud. (Angulo, 2000).



Figura 3. Larvas recién nacidas (izquierda) y larva en cuarto instar (derecha) de *Spodoptera frugiperda* (Negrete y Morales, 2003).

1.1.1.3 Pupa.

Son de color caoba y miden de 14 a 17 mm de longitud, con su extremo abdominal (cremaster) terminado en dos espinas o ganchos en forma de “U” invertida (Figura 4). Esta fase se desarrolla en el suelo y el insecto está en reposo hasta los 8 a 10 días que emerge el adulto (Angulo, 2000).



Figura 4. Pupa de *Spodoptera frugiperda* (Negrete y Morales, 2003).

1.1.1.4 Adulto.

Los adultos son palomillas de color gris oscuro que miden de 20 a 25 mm y tienen una conspicua mancha blanca en el extremo de las alas traseras (Ortega, 1987). Las alas del macho son de un color café más claro que el de las hembras, y tienen una mancha transversal de color blanco cremoso (Figura 5) (Nava y Ramírez, 2002).



Figura 5. Adulto macho (izquierda) y adulto hembra (derecha) de *Spodoptera frugiperda* (Negrete y Morales, 2003).

1.2 Situación del maíz en México.

El maíz es el cultivo agrícola que más se produce en el mundo. Debido a sus cualidades alimenticias para la producción de proteína animal, el consumo humano y el uso industrial, se ha convertido en uno de los productos más importantes en los mercados internacionales. Adicionalmente, el cultivo y transformación de maíz es fuente de empleo y alimento para un número importante de personas en el mundo. En el entorno nacional, la producción de maíz grano en México en el año agrícola 2015 creció a una tasa anual de 6.1 por ciento para totalizar 24.69 millones de toneladas. Para este período, diez estados concentraron el 80% de la producción. Destaca Sinaloa como el mayor productor nacional con 21.8% (FIRA, 2016).

A pesar de la disponibilidad de mejores prácticas agronómicas para la protección de cultivos, hay pérdidas de 31% de la producción de maíz en el mundo debido a plagas y enfermedades (Oerke, 2006).

En Sinaloa, el daño promedio en maíz debido a plagas y enfermedades es de 30%, un poco más de 1 millón de toneladas por año con un valor de 2800 millones de pesos (SIAP, 2009). Para mitigar estas pérdidas se enfatiza el manejo del cultivo a través de aspectos relacionados con el suelo, la nutrición, el clima y el control de plagas y enfermedades (Poisot y col., 2004).

1.2.1 Daño de *Spodoptera frugiperda*.

El gusano cogollero del maíz *S. frugiperda*, es la plaga considerada más importante del maíz en México, las pérdidas por el insecto pueden llegar hasta 60%; su ataque disminuye al entrar en época de lluvias o que la planta alcance el metro de altura. Esta plaga causa su mayor daño cuando se encuentra en estado larval, se alimenta de las inflorescencias sin desarrollar de las plantas jóvenes. En las Figura 6 se ilustran ejemplos de daño tanto de larvas jóvenes como de larvas maduras (SAGARPA, 2009).

Causan destrozos que son muy evidentes cuando las hojas se despliegan. Después de la eclosión comienzan a alimentarse raspando la epidermis foliar y más tarde pasan al verticilo (cogollo) donde comen de manera voraz. Una infestación tardía del

verticilo afecta las espigas y todas las partes de la mazorca. Cuando el tiempo es caliente y seco, las larvas completamente desarrolladas que han caído al suelo antes de convertirse en pupas, empiezan a alimentarse en la base de la planta, cercenando el tallo tierno (Ortega, 1987).



Figura 6. Daño por larvas de *Spodoptera frugiperda* en maíz (Flores y col., 2016).

1.3 Manejo de *Spodoptera frugiperda*.

Históricamente las plagas han sido controladas de varias formas, en los comienzos de la agricultura, el control era fundamentalmente manual, luego se diseñaron instrumentos que ayudaron a controlarlas (Universidad Zamorano, 1996).

1.3.1 Manejo Integrado de Plagas (MIP).

La definición que es más aceptada, según el panel de expertos de la FAO es que el MIP constituye un sistema de manejo de plagas que, en el contexto del ambiente asociado y la dinámica de población de las especies bajo estudio, utiliza todos los métodos y la tecnología adecuada de manera compatible para mantener la densidad poblacional de plagas a un nivel subeconómico, conservando a la vez la calidad ambiental (Badii y col., 2007).

Como resultado de lo anterior se tiene principalmente una disminución de la plaga de tal manera que el daño sobre los cultivos es muy bajo o prácticamente inexistente, disminuyendo costos y esfuerzos de control. También se disminuye el uso de

plaguicidas de origen químico sintético, relegándolos como última opción como alternativa para control de plagas. También disminuyen el daño a la salud causados por los antes mencionados, así como también baja el nivel de deterioro ambiental (causado muchas veces por su persistencia y toxicidad) (PLAGBOL, 2015).

A partir de estos conceptos se pueden dividir los métodos de control empleados en los siguientes, con la aclaración que muchas veces se usa más de uno para un control efectivo de las plagas:

1.3.1.1 Control natural.

El principal controlador del gusano cogollero es la precipitación. Las lluvias generalmente reducen las poblaciones de *S. frugiperda*. Cuando se pronostican lluvias, no es necesario aplicar insecticidas (Universidad Zamorano, 1996).

1.3.1.2 Control biológico.

Dos hongos lo atacan principalmente *Nomuraea rileyi* y *Metharrizhium anisopliae*; su efectividad está limitada por la humedad (Universidad Zamorano, 1996).

Las especies parasíticas de *S. frugiperda* de una forma u otra contribuyen a la biorregulación de las poblaciones de la plaga. Las especies más empleadas para este propósito son *Telonomus sp.*, *Euplectrus plathypenae*, *Chelonus insularis*, *Rogas sp.*, *Archytas marmoratus* (mostradas en la figura 7), entre otros, cuyas características se muestran en el Cuadro 2 (Pérez, 2010).

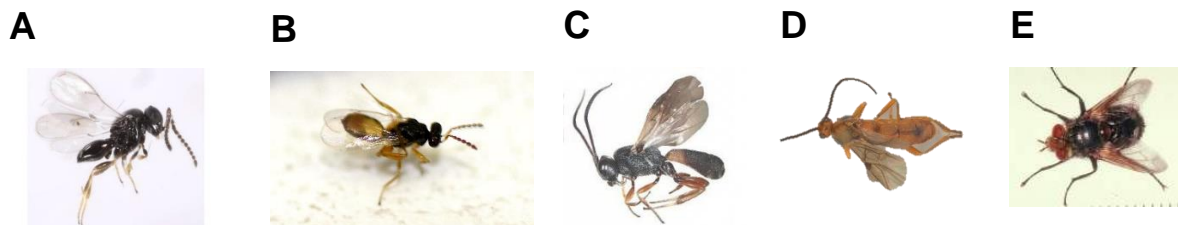


Figura 7. Principales especies parasitoides de *Spodoptera frugiperda*. A) *Telonomus sp.*; B) *Euplectrus plathypenae*; C) *Chelonus insularis*; D) *Rogas sp.*; E) *Archytas marmoratus*.

En el siguiente cuadro se resumen los usos de algunas especies utilizados contra *S. frugiperda*:

Cuadro 2. Características generales de algunos parasitoides utilizados contra *Spodoptera frugiperda* (Pérez, 2010).

Especie	Dosis (ind./ha)	Requisitos	Características	Método de aplicación
<i>Telonomus sp.</i>	3000	Presencia de masas de huevecillos frescas. Poca lluvia	Las hembras adultas parasitan hasta 140 huevos. Alcanzan dos generaciones por cada una del hospedero.	Liberar adultos a una altura similar a la planta.
<i>Euplectrus plathypenae</i>	150 – 250	Presencia de larvas de tercer estadio para su reproducción	Reproducción rápida; alta actividad parasítica	Liberación inoculativa para establecer el parasitoide.
<i>Chelonus insularis</i>	150 – 200	Presencia de puestas de masas de huevecillos frescas	Reproducción rápida; alta capacidad reproductiva.	Liberación de menor dosis cuando se detectan adultos. Mayor dosis cuando existen puestas frescas.

1.3.1.3 Control cultural.

Son labores de atención al cultivo, desde su disposición en el invernadero, preparación de sustratos, siembra, eliminación de residuos, entre otros (FAO, 2002). Entre estas actividades, podemos distinguir dos ampliamente usadas para control de plagas:

1.3.1.3.1 Control mecánico.

Para el control mecánico de las larvas del gusano cogollero se han utilizado prácticas por algunos agricultores como aplicar aserrín, tierra o arena al cogollo. Otra práctica

es apretar el cogollo de la planta afectada para matar a las larvas (Universidad Zamorano 1996).

1.3.1.3.2 Rotaciones y cultivos mixtos.

Cuando se establecen cultivos de rotación que no sean hospederos de la plaga, provoca que *S. frugiperda* no se establezca en áreas que están destinadas al cultivo de maíz. Ejemplos de estos son: girasol, papa, camote, ajonjolí, soya y garbanzo. Resultados experimentales mostraron que en los cultivos donde el maíz no constituye una inter cosecha permanente dan mejores resultados, por la menor incidencia de malezas y de *S. frugiperda* (Pérez, 2010).

1.3.1.4 Control químico.

Es parte de un sistema integral de manejo de plagas, sin embargo, debe de ser la última opción para ser aplicado. En la agricultura y también control de vectores de enfermedades como dengue ha logrado éxito para el desarrollo humano, lamentablemente se ha convertido en el único método de control en muchos lugares, incluso aplicándolo mediante calendario, haya plaga o no (Rogg, 2000).

La tendencia en el aumento del uso de plaguicidas químicos (a veces con valores superiores al 50%), se acentúa en los países en vías de desarrollo. La alta incidencia de intoxicaciones y muertes producidas cada año, el daño a la salud con efectos crónicos y la contaminación ambiental están entre sus principales problemas (Cuadro 3) (Pérez, 2010).

En muchos países, los productores han realizado cambios en el sistema de agricultura, usando otros métodos de control. También la presión social ha contribuido a que los fabricantes de productos agroquímicos los formulen más seguros y compatibles (Rogg, 2000). En la siguiente tabla se ilustran las ventajas y desventajas de utilizar este tipo de productos.

Cuadro 3. Ventajas y desventajas de utilizar un control químico de plagas (Rogg, 2000).

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Efectividad. • Rapidez. • Corto plazo. • Facilidad de aplicación. 	<ul style="list-style-type: none"> • Resistencia de las plagas. • Resurgimiento de plagas. • Sustitución de una plaga por otra. • Efectos colaterales en otras especies de seres vivos. • Daño al medio ambiente • Peligro para el usuario y consumidor. • Altos costos.

En México están autorizados los siguientes plaguicidas para el control de *S. frugiperda*: cipermetrina, clorpirifos etil, diazinon y endosulfán (CESAVEG, 2007).

1.3.1.5 Control alternativo.

Durante muchos años, para reducir los efectos nocivos del gusano cogollero del maíz, se ha dependido del uso de insecticidas químicos, en muchas ocasiones con bajas efectividades, debido a que se han realizado después de que ha pasado el estado ideal para controlar la plaga y edad apropiada del cultivo. El uso indiscriminado de insecticidas provoca altos costos, contaminación ambiental y resistencia de la plaga (Reséndiz y col., 2017).

El control de plagas con ingredientes activos que son relativamente no tóxicos a mamíferos, selectivos para los insectos benéficos y con efectos mínimos al ambiente son llamados “insecticidas biorracionales” (Stansly y col., 1996).

Estos se adaptan muy bien a una estrategia de manejo integrado de plagas y sobretodo, permite que ocurra el control biológico natural (Grubinger, 2009).

Entre estos insecticidas se encuentran Spinosines, Spinosad, VPN (Virus de la poliedrosis nuclear) y *Bacillus thuringiensis* (Bt) como insecticidas con ya probada efectividad y con uso extendido a varios países, entre ellos, México, en donde el uso está autorizado (García y Tarango, 2009; CESAVEG, 2007).

También se pueden usar extractos sencillos y que pueden elaborarse en casa, a base de plantas. El uso más extendido son: el árbol de nim (*Azadirachta indica*), el árbol del paraíso (*Elaeagnus angustifolia*) y el tabaco (*Nicotiana tabacum*), con efectividades reportadas de 72%, 84% y 90%, respectivamente (Reséndiz y col., 2017).

1.4 Agricultura orgánica en México.

Al interior del país, este sector es el subsector agrícola más dinámico, pues aumento su superficie de 23 mil hectáreas en 1996 a 103 mil ha en el 2000, estimándose que alcanzó las 216 mil hectáreas para el año 2002. Esta agricultura es practicada por más de 53 mil productores y genera más de 280 millones de dólares en divisas. Los pequeños productores conforman el 98% del total de productores orgánicos, cultivan el 84% de la superficie y generan el 69% de las divisas orgánicas del país. A diferencia de los otros sectores agropecuarios del país, el sector orgánico ha crecido en medio de la crisis económica. La superficie orgánica presenta un dinamismo anual superior al 33% a partir de 1996. Para 2004/05, con base en datos del CUESTAAM de la Universidad Autónoma Chapingo, obtenidos en el proyecto "Sistema de Seguimiento e Información de la Agricultura Orgánica en México", se estimó una superficie orgánica de 308 mil ha, en la que participaban más de 83 mil productores (Gómez, 2003).

1.5 Plaguicidas orgánicos.

Al hablar de agricultura orgánica es necesario tomar en cuenta que hay que emplear métodos orgánicos no sintéticos para controlar las plagas del cultivo en lugar de sustancias químico-sintéticas, equivale a un entorno más sano tanto para nosotros, como para las plantas, insectos y animales que nos rodean. La acción principal de

los insecticidas “orgánicos” es disminuir el efecto dañino que puedan proporcionar las diferentes especies de insectos que atacan los cultivos; ya sea hortalizas, granos básicos y otros cultivos (FUNSALPRODESE, 2000).

1.5.1 Breve historia de los plaguicidas de extractos vegetales.

De acuerdo al trabajo de Bengoechea y col. (2014); se han encontrado publicaciones del siglo XVIII donde se recomiendan formulaciones a base de plantas para controlar plagas de insectos, tal y como lo hiciera “Parmentier” en 1773, donde recomienda frotar mastuerzo (*Lobularia maritima*) en lugares donde hubiera chinches de cama. También mencionó que obtener el destilado de esta planta y aplicarlo “era más rápido y eficaz su efecto”.

Durante ese mismo siglo, algunos naturalistas notables, como Buffon, Linneo y Reaumur plantearon las bases científicas en el campo de la fitoprotección.

A finales del s. XIX, se integraron las bases de los productos químicos (aceites, alquitranes, caldo de bordelés) para sustituir el uso de productos botánicos. El principal uso de estos últimos fue como repelentes y productos tóxicos. Se identificaron algunos compuestos de origen natural como la nicotina, la nornicotina, la veratrina o la rianodina; que dieron lugar al desarrollo de los primeros plaguicidas de extractos vegetales.

Durante mediados del siglo XX tuvo lugar una serie de acontecimientos que provocan el decaimiento en el uso de los productos fitosanitarios de origen vegetal y fueron reemplazados por los de origen sintético.

En los años 30, los alemanes descubrieron y trabajaron los efectos de los organofosforados en el sistema nervioso humano. El descubrimiento del poder insecticida del DDT en 1939, supuso una revolución, al matar tanto especies que afectaban a los cultivos como a insectos vectores de enfermedades mortales como malaria y fiebre amarilla.

Sin embargo, una serie de eventos acaecidos en la segunda mitad de ese siglo, supuso el regreso en el interés por las moléculas provenientes de vegetales. Estos fueron:

- En 1962, Rachel Carson publica “Primavera silenciosa”, donde expone los efectos devastadores de los plaguicidas sintéticos en el medio ambiente y los seres humanos.
- Se constató el fenómeno de resistencia en las poblaciones plaga.
- Aparecen nuevos estudios acerca de las relaciones planta – insecto que permitió un mejor análisis de las moléculas vegetales con capacidad insecticida y mejor en sus procesos de manejo y obtención.

De esto, se empezó a abrir de nuevo el paso para productos y aceites provenientes de las plantas.

1.5.2 Plaguicidas de extractos vegetales.

El conocimiento que se tiene en las zonas rurales sobre las plantas con actividad medicinal, repelente o insecticida, es grande. Ellos por su cuenta han observado que en la naturaleza hay plantas que no presentan daños de ciertas plagas, además que se notó que se mantienen sanas por algunas propiedades físicas y químicas que poseen. Al momento de seleccionar una planta se debe tener en cuenta su olor, su sabor y su salud. Se debe ser cuidadoso al usar los extractos botánicos y no tenerlos como única y exclusiva táctica de control de plagas, ya que podrían presentar efectos no deseables en resistencia (similar a lo ocurrido con plaguicidas sintéticos) y daños a la salud humana. Se debe estar consciente que es una herramienta más en un sistema de Manejo Integrado de Plagas (Universidad Complutense de Madrid, 2014). En el Cuadro 4 se observan las ventajas y desventajas de los plaguicidas de extractos vegetales sobre los sintéticos.

Cuadro 4. Ventajas y desventajas del uso de plaguicidas botánicos en relación a los sintéticos (Universidad Complutense de Madrid, 2014).

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Material renovable • Biodegradable • Alta disponibilidad • Bajo efecto en enemigos naturales benéficos de las plagas 	<ul style="list-style-type: none"> • Poca información de pruebas toxicológicas • Variabilidad en cantidad de ingrediente activo • Mayor requerimiento de mano de obra • Necesario un equipo de procesamiento • Costo de oportunidad • Baja estabilidad de los extractos • Necesario tener personal calificado

1.6 Metabolitos secundarios (MS).

Las plantas destinan una cantidad significativa de carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas, de bajo peso molecular, que parecen no tener una función directa en procesos vitales de la planta tales como fotosíntesis, respiración, asimilación de nutrientes, transporte de solutos, síntesis de proteínas, carbohidratos y se denominan metabolitos secundarios (también productos secundarios, naturales) (Ávalos y Pérez, 2009).

También, han desarrollado mecanismos físicos para protegerse de los depredadores, tales como paredes celulares más gruesas y menos digeribles, espinas, espigas, pelos. Como parte de una protección química, las plantas sintetizan metabolitos

secundarios con una actividad antimicrobiana, en contra de insectos y animales herbívoros o con actividad antioxidante (Croteau y col., 2000). De igual forma participan en procesos de adaptación de las plantas a su ambiente. Muchos de los metabolitos secundarios se producen cuando las plantas se ponen bajo condiciones de estrés, tales como un ataque de depredadores o condiciones ambientales extremas, tal y como se explica en la figura 8 (Sepúlveda y col., 2003).

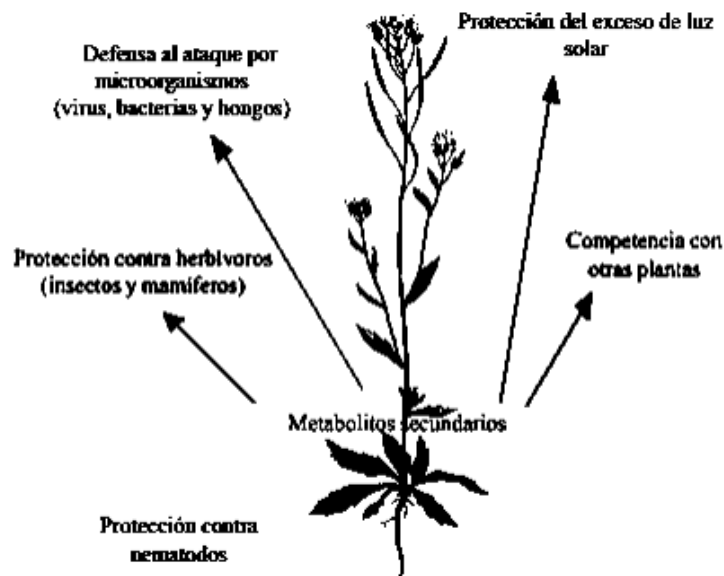


Figura 8. Eventos de activación de metabolismo secundario en plantas (Sepúlveda y col., 2003).

1.6.1 Características de los metabolitos secundarios

Se conocen miles de estructuras de metabolitos secundarios, que por composición química son organizados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Entre los incluidos en nitrogenados están los alcaloides, aminoácidos no protéicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. Mientras tanto en el grupo de no nitrogenados están terpenos, poliacetilenos, policétidos y compuestos fenólicos. Los precursores de los metabolitos secundarios (MS) se derivan del metabolismo primario, como glucólisis, ciclo de Krebs o vía del ácido shikímico, por lo que muchas veces son parecidos y se llegan a confundir, haciendo que la diferenciación de primarios con secundarios sea muy difusa. Existen MS que se sintetizan y almacenan

en distintas partes de la planta, como el floema o xilema. La síntesis, o no, de cada uno de ellos depende del nivel de desarrollo de la planta y del estrés al que estén sometidos. Este aumento es importante, ya que muchos derivan del metabolismo primario de la planta e incluso algunos compuestos son tóxicos para la misma planta (Sepúlveda y col., 2003; Ávalos y Pérez, 2009).

También reciben la denominación coloquial de “productos naturales”. Tienen un gran valor medicinal y económico, derivado de su uso en las industrias farmacéutica, alimentario, agroindustrial, cosmética, alimentaria, entre otras. En usos tan variados como saborizantes, aromatizantes, estabilizadores, aceites esenciales e incluso como ingrediente activo de muchos medicamentos (Ávalos y Pérez, 2009).

1.6.2 Metabolitos secundarios como parte del control de plagas.

El estudio de la actividad biológica de algunos compuestos presentes en las plantas, ofrece una oportunidad de descubrir insecticidas nuevos y eficientes para el control de plagas, los cuales pueden ser tolerados por los cultivos e inocuos para el consumidor. Pueden ser aprovechados al aplicarlos de forma exógena o al promover su actividad a través de ambientes de estrés abiótico controlado (Vázquez y col., 2012). Ejemplos de estos los tenemos a través de compuestos ya probados y utilizados, de origen natural, tal como las hojas de yuca, el árbol de nim y del tabaco (Negrete y Morales, 2003).

1.6.3. Tipos de acción insecticida desarrollada por los insecticidas de origen vegetal.

No todos los insecticidas actúan de la misma manera, ya que los metabolitos secundarios que produce la planta, pueden tener distintos efectos dependiendo de la defensa que ejercen (Vázquez y col, 2012). Se ha propuesto que las plantas pueden interferir en el desarrollo del insecto, además de su muerte (insecticida) de las siguientes formas:

Reguladores de crecimiento: Cuando se consumen, los MS alteran el desarrollo normal del insecto, evitando que este alcance su crecimiento pleno y en consecuencia, su actividad nociva en la planta.

Inhibidores de alimentación: Desarrollando una acción de bloqueo en la absorción de los nutrimentos básicos para crecimiento del insecto, por lo que después de que el insecto ingiere el MS, muere por inanición.

Repelentes: La ejercen los compuestos que ejercen efectos irritantes en los insectos que intentan atacar a la planta (Silva y col, 2002).

1.7 Árbol/arbusto de timbe (*Acaciella angustissima*).

1.7.1 Generalidades de *Acaciella angustissima*.

Es un árbol o arbusto de hasta 5 m de altura (Figura 9), sin espinas; con hojas alternas y compuestas, de 6 a 15 pares de pinnas y hasta 60 o más pares de hojuelas por pinna; flores blancas en cabezuelas, agrupadas en inflorescencias paniculadas; vainas aplanadas de 7 a 12 mm de largo, de color guinda verdoso, dehiscencia en la base, de corteza lisa y color café clara (Figura 9). En el Cuadro 5 se muestra su clasificación taxonómica (Pérez y Pliego, 1993).



Figura 9. Árbol de timbe (izquierda). Acercamiento al árbol de timbe (derecha).

Acaciella es un género que se produce ampliamente del sur de EE.UU hasta Argentina, pero la mayoría de sus especies sólo se producen en México, en un amplio rango de hábitats, desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm (Rico y Bachean,

2006). Son tolerantes a bastantes tipos de suelos, pero en donde se desarrollan más favorablemente es en los suelos poco profundos, calcáreos, arenosos, pedregosos y bien drenados (Terrones, 2006).

Cuadro 5. Clasificación taxonómica de *Acaciella angustissima*.

Dominio	Eukarya
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	<i>Acaciella</i>
Especie	<i>A. angustissima</i>

Hay un interés de utilizar esta especie en el campo agroforestal debido a su rápido desarrollo y la capacidad de fijar el nitrógeno. También *A. angustissima* tiene la habilidad para formar islas de fertilidad con el contenido de materia orgánica del suelo, evitando erosión y es un refugio para la flora y fauna, aunado al hecho de que está adaptada a bajos regímenes de riego (Rincón y Gutiérrez, 2008).

1.7.2 Propiedades bioactivas de *Acaciella angustissima*.

Acaciella angustissima pertenece al género *Acaciella*, que ha sido reportado como fuente de compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forma parte de la dieta humana. Dentro de la clasificación general se encuentran los fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, que constituyen un amplio grupo de sustancias químicas consideradas metabolitos secundarios de las plantas. Los compuestos fenólicos de las vainas maduras de esta planta presentan actividades biológicas tales como antioxidantes, antimutagénicas, antidiabéticas, anticancerígenas y antiinflamatorias.

Se muestra una foto de vaina de timbe en la Figura 10 (Feregrino y col., 2011; Veloz y col., 2010, Marín y col., 2009).

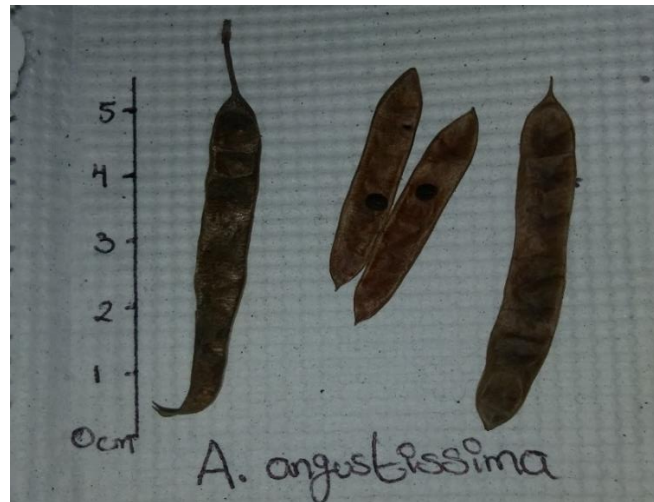


Figura 10. Vaina de *Acaciella angustissima* (Fuente propia).

Se han realizado estudios de actividad biológica de extractos de vainas de esta planta con resultados interesantes desde el punto de vista farmacéutico y de industria de alimentos donde se pudo apreciar que los extractos metanólicos de vainas de *A. angustissima* muestran actividades biológicas tales como antioxidante, actividad antimicrobiana y antimutagénica, que podría estar relacionado con sus compuestos fenólicos (Vargas y col., 2013). Por lo tanto, los resultados obtenidos sugieren un uso potencial de vainas de *A. angustissima* en diferentes áreas industriales. Por medio del método SSH se mostró la presencia de genes con homología a la proteína de dominio NAC, muta con proteínas similares de cloroplastos, GATA factor de transcripción-12 como y TIC55 proteína. Estos genes podrían tener importancia biológica o que podrían ser útiles en aplicaciones biotecnológicas o industriales, principalmente de proteína de dominio NAC, sin embargo, son necesarios más estudios con el fin de comprender mejor su actividad biológica en *A. angustissima* (Vargas y col., 2014).

También, recientemente se ha desarrollado un sistema in vitro de propagación de timbe que potencialmente puede servir para sobreproducción de compuestos fenólicos (Alonso y col., 2016).

2. HIPÓTESIS

Los extractos metanólico y hexánico de la vaina de timbe (*Acaciella angustissima*) presentan actividad insecticida y/o insectistática contra el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*).

3. OBJETIVOS

3.1. General.

Determinar la actividad insecticida e insectistática de los extractos metanólico y hexánico de la vaina de timbe (*Acaciella angustissima*) contra el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*).

3.2. Específicos.

- Evaluar la actividad insecticida y/o insectástica del extracto metanólico de la vaina de *A. angustissima* en larvas de *S. frugiperda*.
- Evaluar la actividad insecticida y/o insectástica del extracto hexánico de la vaina de *A. angustissima* en larvas de *S. frugiperda*.
- Determinar la concentración letal media (CL₅₀) de los extractos metanólico y hexánico de la vaina de *Acaciella angustissima* en larvas de *Spodoptera frugiperda*.

4. METODOLOGÍA

4.1. Materiales.

- Matraz bola 24/40 de 1 L
- Refrigerante serpentín 24/40
- Varilla de vidrio
- Pipeta graduada de 10 mL
- Probeta de 500 mL
- Matraces Erlenmeyer de 500 mL
- Papel filtro Whatman No.42
- Vasos de precipitados de 500 mL
- Matraz Kitazato de 500 mL
- Mangueras de caucho
- Espátula
- Pinzas metálicas
- Vasos marca PRIMO®, #0

4.2. Reactivos.

- Metanol grado técnico, marca Golden Bell
- Cloroformo grado técnico, marca Golden Bell
- Hexano grado técnico, marca Golden Bell

4.3. Equipos.

- Cámara bioclimática
- Bomba de vacío
- Plato caliente
- Bomba recirculadora
- Mantilla de calentamiento
- Regulador de intensidad de corriente
- Evaporador rotatorio
- Balanza analítica

4.4. Procedimiento

4.4.1. Sitio de estudio.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas, ubicado en la Facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro.

4.4.2. Cría de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio.

Fueron proporcionadas masillas de huevo por parte del Dr. Rodolfo Figueroa Brito perteneciente al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CeProBi-IPN) ubicado en la población de Yautepec en el estado de Morelos.

Las masas de huevecillos se recortaron de la bolsa para ser colocadas en un recipiente limpio de plástico con una capacidad de 500 mL. Permanecieron ahí hasta su eclosión. Posterior a ello cada larva de primer instar se colocó con un pincel en un vaso del plástico limpio de número 0. A cada vaso se le colocó dieta, preparada

en base al trabajo de Bervingson y Kumar (1997) y modificada por Ramos y col. en el 2014, cuya composición se indica en el cuadro 6. Posteriormente se colocaron en una cámara climática a una temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; $70\% \pm 5\%$ de humedad relativa y un fotoperiodo de luz – oscuridad de 14-10 horas (Ramos y col., 2014).

Cuadro 6. Ingredientes para la dieta artificial de *Spodoptera frugiperda*.

Ingrediente	Cantidad*
Maíz molido y esterilizado	120 g
Frijol molido y esterilizado	60 g
Levadura de cerveza	20 g
Sulfato de neomicina	0.60 g
Vitaminas	10 g
Ácido ascórbico	1.70 g
m-p-hidroxibenzoato	1.70 g
Formaldehído	2.50 mL
Agar bacteriológico	10 g
Etanol grado técnico	17 mL
Agua destilada	400 mL
Agua embotellada	400 mL
*Por cada 1000 g de dieta	

Una vez formada la pupa, se sacó del vaso y se dispusieron grupos de 30 en otro recipiente limpio de plástico con una capacidad de 1 L, se regresó a la cámara climática con las condiciones ya mencionadas anteriormente. Cuando emergieron las palomillas (que es la fase adulta de la especie), se colocaron en una bolsa de papel blanco, donde se reprodujeron. Los huevecillos, ovopositados en las paredes de la bolsa, se recortan y ponen en recipientes limpios para volver a repetir el ciclo.

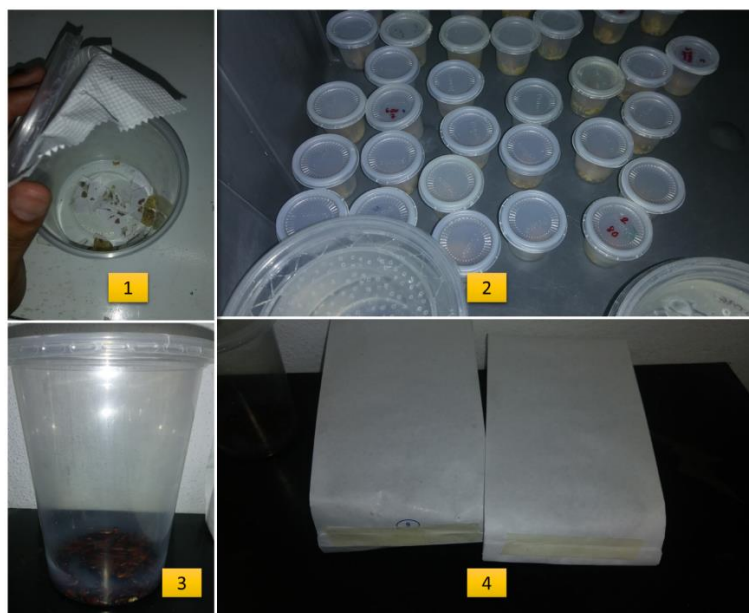


Figura 11. Fases de la cría de *Spodoptera frugiperda*: 1) Fase de huevecillo; 2) Fase larval; 3) Fase pupal; 4) Fase adulta (Fuente propia).

4.4.3. Obtención de los extractos de vaina de *Acaciella angustissima*.

4.4.3.1. Recolección y preparación de *Acaciella angustissima*.

Las vainas de *A. angustissima* se recolectaron en el campus Amazcala perteneciente a la Universidad Autónoma del estado de Querétaro con coordenadas 20°42'17.70" latitud norte y 100°15'34.33" longitud oeste a una elevación media de 1920 msnm. Se pusieron a secar en una zona fresca y sombreada a temperatura ambiente para posteriormente pulverizarlas con ayuda de un molino de mano. Se guardaron en bolsas de plástico y colocaron en un lugar fresco y seco.

4.4.3.2. Obtención de los extractos de vaina de *Acaciella angustissima*.

El procedimiento seguido fue siguiendo el método de Pérez y col. (2011):

Para el extracto metanólico, se colocaron 100 g de la vaina molida en un matraz bola 24/40 de 1 L y se añadieron 300 mL de metanol. Se dispuso sobre la mantilla de calentamiento (ésta unida previamente al riostato en una medida de 60), se le montó

el refrigerante serpentín y se encendió. Se dejó a reflujo por 4 horas, siempre vigilando que el serpentín esté helado.

Se dejó enfriar el líquido resultante y se filtró por gravedad. Después se le realizó una segunda filtración, ahora por vacío.

Finalmente, el extracto, colocado en un frasco, se calentó a baño maría para evaporar el solvente, siempre agitando con una varita de madera.

Se obtuvo un producto sólido en el fondo, que es el extracto metanólico. Se repitió el procedimiento hasta obtener la cantidad suficiente de extracto para realizar las pruebas biológicas y fitoquímicas.

Se realizó un similar procedimiento, ahora con hexano grado técnico y otros 100 g de vaina molida para obtener el extracto hexánico (esta vez con el riostato en una medida de 35-40).

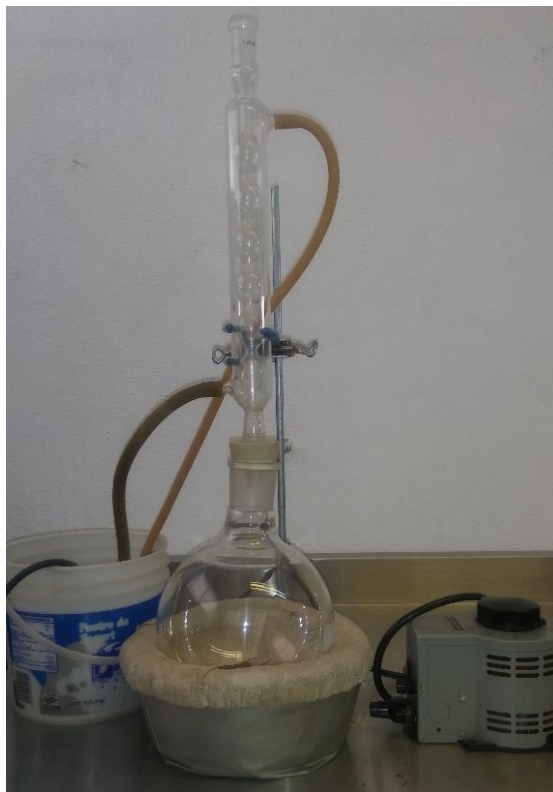


Figura 12. Equipo de extracción por reflujo utilizado para obtener los extractos de vaina de *Acaciella angustissima* (Fuente propia).

4.4.4. Pruebas biológicas de los extractos metanólico y hexánico de vaina de *Acaciella angustissima* contra *Spodoptera frugiperda*.

Se siguió la metodología propuesta por Zavala y col. (2013)):

Para cada extracto se preparó dieta para *S. frugiperda* (cuadro 6) en 6 recipientes distintos y se le adicionó la cantidad necesaria a cada uno para obtener las concentraciones de 5000, 4000, 2000, 1000, 500 y 0 ppm (este último funcionó como control negativo). Se colocaron trozos de dieta de cada una de las concentraciones en vasos de plástico del número cero y en cada uno de ellos se les puso una larva de segundo instar de *S. frugiperda*, con ayuda de un pincel número cero y seleccionada al azar. En seguida, se taparon los vasos y se colocaron en una cámara bioclimática con las condiciones ya descritas anteriormente: $27^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$ y $70\% \pm 5\%$ humedad relativa; fotoperiodo luz – oscuridad de 14-10 horas.

Para cada tratamiento, se realizaron 4 unidades experimentales con 5 repeticiones cada uno.

Se revisaron los tratamientos cada tercer día hasta que la larva estuvo en el sexto instar en el control negativo (0 ppm), donde se revisaron diario a partir de ese momento.

Las variables a evaluar fueron: mortalidad larval y pupal (en porcentaje), duración larval y pupal (días), peso de la larva a los 10 y 20 días, así como el peso de la pupa a las 24 horas de su formación (mg), además de la concentración letal media.

4.4.5. Pruebas fitoquímicas

El procedimiento seguido se hizo de acuerdo a la publicación realizada por Verde y col. en el 2016.

Se pesaron 0.1 g del extracto y se suspendió en 30 mL del solvente del cual se realizó la extracción (ejemplo: si el extracto es metanólico, se suspende en metanol).

- **ALCALOIDES:** A 1 mL del extracto, se le añadieron 5 mL de ácido clorhídrico al 5% y se calentó por 10 minutos. Se dejó enfriar y se dividió en 3 tubos de ensayo. Al primero se le agregó 5 gotas de reactivo de Dragendorff (cuyo color positivo es naranja), al segundo, 5 gotas de reactivo de Mayer (color positivo blanquecino) y al último, 5 gotas de reactivo de Wagner (color positivo marrón).
- **CARDIOTÓNICOS:** Se pusieron 2.5 mL de extracto en un tubo de ensayo y se adicionaron algunas gotas de acetato de plomo al 10%. Se procedió a colocar la mezcla a baño maría por 10 minutos. Se agregaron 0.5 mL de cloroformo, y se dividió la fase clorofórmica en 5 tubos de ensayo. Se llevó a sequedad. Posteriormente se usó cada uno para las siguientes pruebas: 1) Se agregó 1 mL de reactivo de Baljet (color positivo rojo a violeta); 2) Se agregó 1 mL de reactivo de Raymond (color positivo rojo a violeta); 3) 1 mL de reactivo de Keller (color verde azulado); 4) 1 mL de reactivo de Liebermann (color verde a azul); 5) 1 mL de reactivo de Salkowski (color positivo amarillo a rojizo).
- **CUMARINAS VOLÁTILES:** Se colocaron 2 mL de extracto en un tubo de ensayo. Se tapa con un papel filtro impregnado con solución de hidróxido de sodio al 5%. Se colocó en baño de agua a 100°C por algunos minutos. Pasado el tiempo, se coloca el papel filtro en una cámara de luz ultravioleta. Un color verde a azul indica que la prueba es positiva.
- **FLAVONOIDES:** En un tubo de ensayo, se mezclaron 2 mL de extracto con 1 o 2 fragmentos de magnesio y algunas gotas de ácido clorhídrico al 10%. Un color amarillo a naranja indica presencia de flavonas y flavonoles; flavanonoles son indicados por un color rojo a magenta; Flavanonas dan color magenta, violeta o azul para ser positivo; una prueba con ausencia de color es por la presencia de flavononas, acronas y/o chalcanos.
- **TANINOS:** Se evaporaron 2 mL de extracto en un tubo de ensayo. A continuación se añadieron 4 mL de agua destilada, se agitó y se repartió en 4 tubos. Al primero se le añadieron 2 gotas de cloruro férrico al 10%; un color azul oscuro indicaba taninos hidrolizables, en cambio si era verde, mostraba la presencia de

taninos condensados. En el segundo tubo, se colocaron 5 gotas de solución de gelatina. En el tercero, 5 gotas de solución de gelatina – sal. En ambos, un precipitado blanco es prueba positiva. Al último se añadieron 5 gotas de solución salina, donde se debe ver la ausencia de precipitados para indicar que el extracto no contiene taninos.

- **SAPONINAS:** En un tubo de ensayo, se pusieron 2 mL de extracto y se llevaron a sequedad. A continuación, se agregaron 2 mL de agua destilada hirviendo, tras lo que se agitó vigorosamente, se dejó enfriar y reposar por 15 minutos. Si existió la persistencia de espuma, indicaba presencia de saponinas.
- **TRITERPENOS Y ESTEROIDES:** Se evaporaron 2 mL del extracto en tubo de ensayo. Después se colocaron 2 mL de cloroformo y dividieron en 2 tubos de ensayo. 1) Al primer tubo, se le añadieron 5 gotas de reactivo de Liebermann (color rosa a verde indica que es positiva la prueba); 2) Al otro tubo se le puso 1 mL de ácido sulfúrico al 85% (color positivo amarillo a naranja).
- **DERIVADOS ANTRACÉNICOS LIBRES:** Se mezclaron 0.5 mL de extracto con 5 mL de cloroformo en un tubo de ensayo. Posteriormente se agitó y dejó reposar por 15 minutos. La fase clorofórmica se separó y colocó en 2 tubos de ensayo para realizar las siguientes pruebas: 1) Se agregó 1 mL de hidróxido de sodio al 5%. Si hay color rojo en la fase acuosa, es por presencia de antraquinonas; 2) Se añadió 1 mL de ácido sulfúrico al 85%, color violeta indica quinonas, naranja mostró m-hidroxilasas; púrpura, p-hidroxilasas.

4.4.6. Análisis estadístico

Los datos obtenidos en los bioensayos realizados fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía y prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). La obtención de las concentraciones letales medias se hicieron mediante un análisis Probit. Ambos se realizaron mediante el paquete estadístico SYSTAT 9.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Rendimiento de los extractos metanólico y hexánico de vaina de *Acaciella angustissima*.

El rendimiento obtenido en el procedimiento realizado fue de 6.12% para el extracto metanólico y 2.72% para el extracto hexánico en peso. En la bibliografía no existen comparaciones contra otras especies pertenecientes al género *Acaciella* sin embargo, se han realizado estudios en otras especies de la familia Fabaceae. Según el trabajo publicado por Chanda y col. en el año 2010, se obtuvieron distintos rendimientos para diversas especies de fabáceas en extractos metanólicos y hexánicos de partes aéreas.

Para los extractos hechos a partir de vaina de *A. angustissima*, el rendimiento que se tuvo como resultado fue superior a los obtenidos en estudios similares con otras fabáceas para ambos extractos, siendo hasta en 1% mayor en porcentaje de peso a los extractos reportados en ese estudio para ambos solventes utilizados, como se observa en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Rendimientos en porcentaje peso – peso de extractos metanólicos y hexánicos de distintas especies de la familia Fabaceae (Chanda y col., 2010).

Especie	Rendimiento (% w/w)	
	Extracto metanólico	Extracto hexánico
<i>Cajanus indica</i>	3.23	0.77
<i>Pisum sativum</i>	5.39	1.48
<i>Vicia faba</i>	3.68	0.58
<i>Vigna mungo</i>	2.66	0.60
<i>Vigna radiate</i>	3.79	0.49
<i>Vigna unguiculata</i>	5.05	0.72

5.2. Pruebas fitoquímicas del extracto

En el cuadro 8 se puede apreciar los resultados obtenidos para cada prueba fitoquímica realizada para ambos extractos, el extracto hexánico dio positivo para.... Mientras el extracto metanólico dio positivo para triterpenos y esteroides, alcaloides y taninos condensados.

Cuadro 8. Resumen de las pruebas fitoquímicas realizadas a los extractos metanólico y hexánico de *Acaciella angustissima*.

Grupo	Resultado	
	Extracto hexánico	Extracto metanólico
Alcaloides	Positivo	Positivo
Cardiotónicos	Negativo	Negativo
Saponinas	Negativo	Negativo
Flavonoides	Negativo	Negativo
Taninos	Negativo	Positivo; taninos condensados
Triterpenos y esteroides	Positivo	Positivo
Derivados antracénicos libres	Negativo	Negativo

Al analizar los datos arrojados por las pruebas, se observó que ambos difirieron sólo en un grupo funcional: taninos. Mientras que el extracto metanólico dio positivo para taninos, específicamente taninos condensados, el extracto hexánico tuvo un resultado negativo para ellos, como se explica y detalla gráficamente en la figura 13.

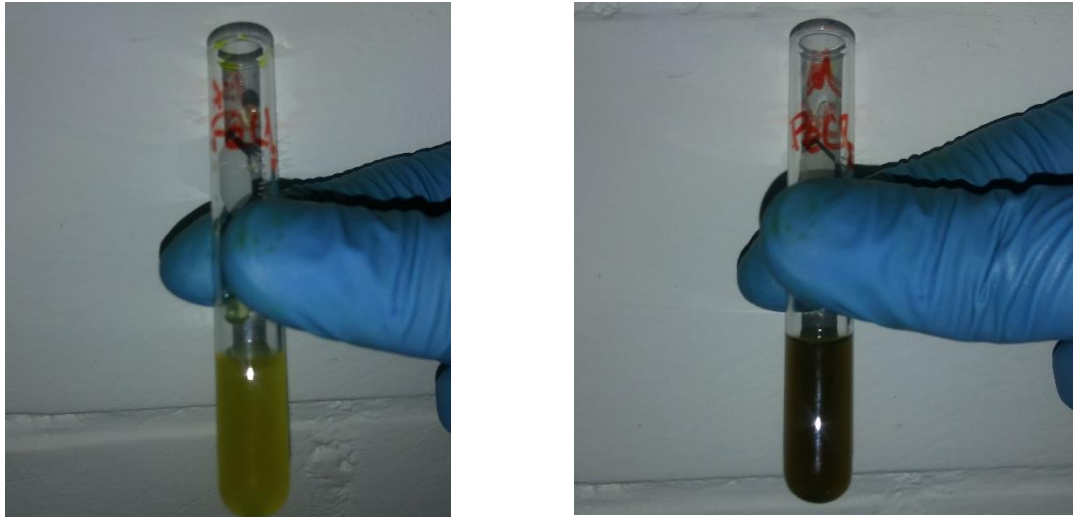


Figura 13. Prueba para taninos con cloruro férrico. No hubo cambio para el extracto hexánico (izq.), mientras para el extracto metanólico (der.) se tornó de color verde pardo, indicativo de taninos condensados.

En los resultados de los bioensayos, el efecto insecticida y juvenomimético fue claramente superior para el extracto hexánico que para el extracto metanólico, por lo cual puede deberse a la presencia de taninos. La actividad insecticida en el caso del extracto hexánico, comparando concentraciones letales medias, fue 297.96% mayor que para el caso del extracto metanólico.

Los taninos pertenecen al grupo de compuestos fenólicos de origen fitoquímico, de los cuales se ha visto que tienen efectos antioxidantes (Andrés y col., 2010). Los compuestos polifenólicos varían ampliamente en estructura, desde monómeros y oligómeros hasta los polímeros de alto peso molecular como los taninos. Se han dividido en dos grupos: flavonoides y no flavonoides. Los últimos incluyen las estructuras más sencillas ligadas a esqueletos de 4 a 6 carbonos. Los flavonoides tienen un esqueleto que consta de dos anillos aromáticos y un anillo heterocíclico condensado. Ambos grupos se pueden encontrar formando compuestos de alto peso molecular, llamados taninos en ambos casos (Reed, 2010).

Hay varias clases de taninos, entre las que destacan dos especialmente: taninos hidrolizables, divididos en galotaninos y elagitaninos, (que provienen de los polifenoles no flavonoides) y taninos condensados (también llamados protoantocianidinas), los cuales son explicados más a detalle en la figura 14 (Vázquez y col., 2011).

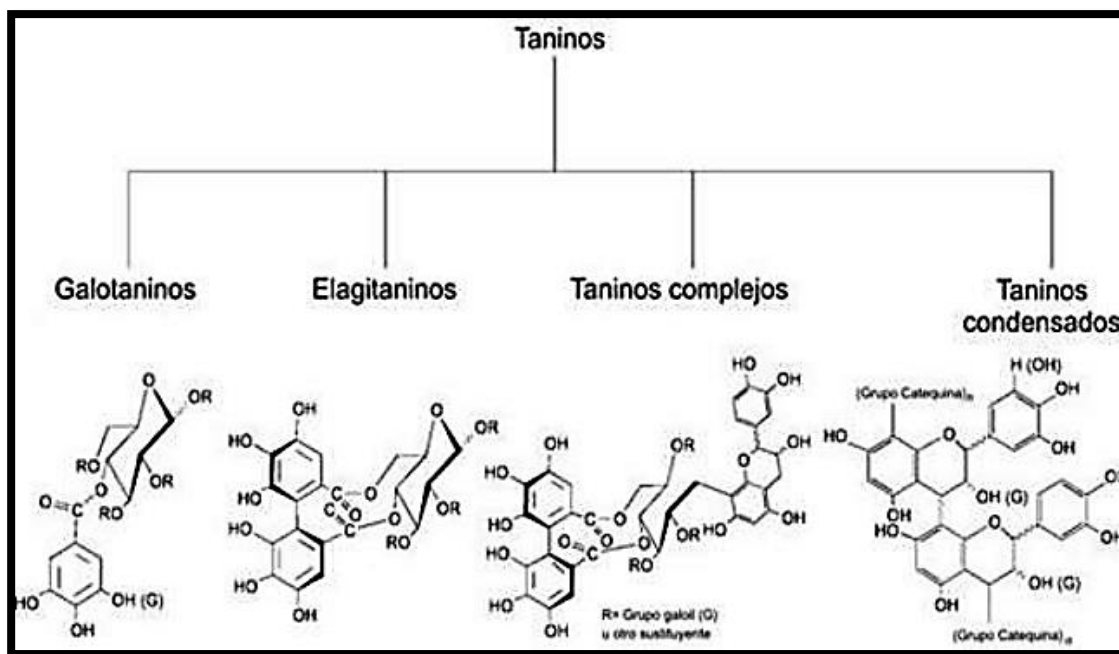


Fig. 14. Clasificación de taninos (Khanbabaee y van Ree, 2001).

Se ha estudiado el efecto tóxico de los taninos en una amplia gama de animales vertebrados e invertebrados. Para taninos hidrolizables se han descubierto efectos indeseables como estrés oxidativo y grave daño intestinal en orugas del orden Lepidoptera, los cuales requieren una gran alta concentración, normalmente alrededor de 15% en peso seco de la dieta utilizada (Barbehenn y col., 2009). Sin embargo, en el caso de protoantocianidinas, el efecto tóxico no ha quedado tan claro. Se han realizado estudios con dietas artificiales que contienen taninos condensados purificados, los cuales tienden a potenciar su efecto y tasa de consumo en lepidópteros (Karowe, 1989). Estudios con insectos fitófagos han encontrado a veces un pequeño impacto en el funcionamiento de su organismo al usarlos, lo que sugiere que pueden actuar como diluyentes de nutrientes al ser similares a otros

componentes no digeribles. Similarmente, algunas especies con alto contenido en taninos, como *Lespedeza cuneata* (Fabaceae) no mostraron efectos significativos en el crecimiento y desarrollo de las especies *Helicoverpa zea* y *Spodoptera frugiperda* (Buntin y Wiseman, 1990). En orugas de *Lymantria dispar* que se alimentaron con hojas de maple con un 15% en peso seco de taninos condensados añadidos, las tasas de crecimiento no fueron afectadas, sugiriendo que no hubo un efecto metabólico en ellas (Barbehenn y col., 2009).

En cuanto al efecto en la elección de comida, resultados en varios estudios realizados por Ayres y col. (1997) demostraron que los taninos condensados que incluyen las plantas no tienen efectos en orugas del orden Lepidoptera como defensa general contra ellos. Por lo que la correlación con los taninos condensados no reflejó un daño en el funcionamiento de *L. dispar*.

En la mayoría de orugas del orden Lepidoptera, así como muchos otros insectos herbívoros, su pH intestinal ronda el valor de 9, lo que lo protege del efecto tóxico de los taninos al prevenir que se unan a proteínas. Esto también es crítico para evitar la auto-oxidación de los taninos al provocar que los niveles de oxígeno sean bajos (Barbehenn, 2005).

Varias de las especies vegetales que consume *S. frugiperda*, son ricas en taninos condensados, como la cáscara de frijol (Del Pino y Lajolo, 2003). Esto ha creado una resistencia genética a esta clase de compuestos polifenólicos, por lo que su efecto en ellos es nulo. Debido a esto y a que el extracto metanólico de vainas de *A. angustissima* incluía cantidades de taninos condensados, lo que pudo provocar cierta preferencia o resistencia a los compuestos contenidos en el extracto, fue un factor que pudo provocar su efecto tanto en mortalidad como juvenomimético haya sido menor que el extracto hexánico. Sin embargo, es importante realizar más estudios de la composición de los extractos para descartar sustancias ya estudiadas y también efectos de resistencia y/o sinérgicos (Barbehenn y Constabel, 2011).

5.3. Actividad insecticida y juvenomimética del extracto metanólico de vaina de *Acaciella angustissima* contra *Spodoptera frugiperda*.

En el cuadro 9 se muestran los porcentajes de mortalidad larval, pupal y acumulada para el extracto metanólico de vaina de *A. angustissima*. Para la mortalidad larval no se observó una diferencia significativa con respecto al control negativo. Sin embargo, sí existe esa diferencia con respecto al control positivo por lo que se asume que para esta respuesta, el efecto del extracto fue menor que para el nim. La concentración letal media larval obtenida fue de 9214.63 ppm. En el caso de la mortalidad pupal, hubo un efecto de tendencia ascendente, teniendo la mayor mortalidad a 5000 ppm. Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre las concentraciones evaluadas. Finalmente en los porcentajes de mortalidad acumulada se observaron resultados parecidos al de la mortalidad larval, donde la mayor cifra se ubica en la concentración mayor, aunque no hubo diferencias significativas. La concentración de 5000 ppm fue la única distinta de 0 ppm, aunque también fue menor que para la dieta artificial con nim. Se obtuvo una concentración letal media (CL₅₀) para mortalidad acumulada de 5480.23 ppm.

En el 2009, Salinas y col., realizaron un estudio acerca del efecto del extracto metanólico de *Prosopis laevigata* en *Spodoptera frugiperda*. Para ello evaluaron la concentración de 500 ppm del extracto en larvas, obteniendo una mortalidad larval de 33% y una mortalidad pupal de 45%, con mortalidad total acumulada del 78%. Ambos fueron significativamente diferentes al control negativo (no hubo mortalidad pupal ni mortalidad larval en su experimento). Comparado, por tanto, con el extracto metanólico de *A. angustissima* se pudo observar que fue mayor para las tres respuestas comparadas incluso que la concentración mayor utilizada en este trabajo (5000 ppm). Por tanto, se puede decir que el extracto metanólico de *A. angustissima* presentó baja actividad insecticida.

Cuadro 9. Actividad insecticida por extracto metanólico de vaina de *Acaciella angustissima*.

Trat. (ppm)	% Mor. larval	% Mor. pupal	% Mor. acum.
5000	30.00±10.50**	20.00±9.18	50.00±11.50**
4000	20.00±9.18**	15.00±8.19	35.00±10.90**
2000	5.00±5.00**	5.00±5.00	10.00±6.88**
1000	5.00±5.00**	5.00±5.00	10.00±6.88**
0	15.00±8.19	0.00±0.00	15.00±8.19
NIM	85.00±8.19	10.00±6.89	95.00±5.00
	P<0.001	P=0.266	P<0.001
CL₅₀ (Larval)= 9214.63 ppm (ND)			
CL₅₀ (Acumulada)= 5480.23 ppm (4126.08 ppm – 9866.10 ppm)			
Resultados promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. ND = No de determinaron los índices fiduciaros al ser resultado de un solo dato. CL ₅₀ = Concentración letal media. NIM = control positivo. Medias con (*) indican diferencias significativas con control negativo; (**) indica medias con diferencias significativas respecto a NIM; (+) indica diferencias significativas con ambos controles (Prueba de Tukey, P<0.05).			

Siguiendo con el cuadro 10 se presentan los resultados obtenidos en las respuestas juvenomiméticas del extracto metanólico de vaina de *Acaciella angustissima*. En cuanto a la duración larval, se observa que los grupos estuvieron muy cercanos, con una diferencia muy pequeña entre tratamientos pero con diferencias estadísticamente significativas y ascendente conforme la concentración. Ninguna concentración fue estadísticamente distinta al control negativo y todas fueron menores y estadísticamente distintas a la dieta con nim. Sobre la duración pupal, las diferencias estadísticas fueron aún más pequeñas, por lo que no hubo una tendencia. Siguiendo con el peso de la larva a los 10 y 20 días, los resultados que arrojó el bioensayo mostraron fluctuaciones pasando de un nivel de tratamiento a otro, sin tener tendencias, sólo hubo diferencia significativa con el control positivo (P<0.001). Comparando con el control positivo, los resultados de los tratamientos con significativamente distintos, ya que en este, el peso fue menor. Concluyendo con el

peso pupal, fueron parecidos estadísticamente, incluso comparados al control positivo ($P=0.634$) por lo que tampoco se notó un efecto del extracto ni del nim en este apartado, cosa que se pudo deducir también del bajo efecto sobre el peso larval.

Samia y col. (2016) trabajaron con extractos polares de hoja y corteza de *Copaifera langsdorffii* en *S. frugiperda*. En este trabajo, se evaluó la actividad juvenomimética, a partir de duración larval, peso larval y peso pupal, con tratamientos de 2500 ppm en dieta artificial. En cuanto al peso larval a los 10 días, los resultados fueron 42 y 94 mg, para hoja y corteza respectivamente. Comparados al control negativo, ambos fueron significativamente distintos, aunque comparados entre ellos también lo fueron, por lo que el extracto de hoja tuvo un efecto mayor. Comparados con las concentraciones de 2000 y 4000 ppm, que fueron las más similares a este trabajo, se observa que sólo existieron diferencias estadísticas significativas hasta el tratamiento de mayor concentración, siendo incluso el peso promedio de las larvas en 2000 ppm mayor que el control, lo cual denotó un efecto fagoestimulante. Siguiendo con la duración larval, para el extracto de hojas, estuvo alrededor de 24 días, mientras que para el extracto de raíz se ubicó cercana a los 22.5 días. Sólo el primero resultó significativamente distinto al control negativo (cuyo resultado fue aproximadamente 21.8 días). En cuanto al extracto metanólico de *A. angustissima*, aunque en números la duración larval fue muy parecida, en este caso ninguna concentración evaluada fue significativamente distinta al control negativo. Para la última respuesta, el peso pupal, respecto al extracto de hojas, se ubicó en 260 mg, mientras fue de unos 275 mg para el extracto de corteza. Ambos fueron significativamente distintos al control negativo, que tuvo un peso promedio cercano a 300 mg. En este trabajo, el peso promedio de las pupas fue estadísticamente igual para todos los tratamientos con respecto al control negativo.

Por tanto, y con base a lo hallado en extractos de *C. langsdorffii* se puede decir que el extracto metanólico de *A. angustissima* no posee actividad juvenomimética sobre *S. frugiperda*.

Cuadro 10. Actividad juvenomimética por tratamiento con extracto metanólico de vaina de *Acaciella angustissima*.

Trat. (ppm)	Dur. Larval (días)	Dur. Pupal (días)	Peso 10 días (mg)	Peso 20 días (mg)	Peso pupal (mg)
5000	24.00±0.85**	10.00±0.79	90.70±11.70**	294.50±22.30**	209.57±5.23
4000	24.38±0.52**	11.39±0.58	63.45±8.34	369.80±23.60**	215.38±6.10
2000	22.42±0.41**	11.18±0.39	125.05±9.95**	348.60±22.10**	209.32±5.12
1000	22.00±0.43**	10.50±0.28	156.00±11.90 ⁺	290.90±14.40**	205.37±6.50
0	22.94±0.58	10.94±0.30	92.00±11.60	304.80±20.90	200.53±6.35
NIM	35.00±2.31	10.00±ND	28.70±13.20	139.50±35.10	200.30±11.10
	P<0.001	P= 0.363	P<0.001	P<0.001	P=0.604

Resultados promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. ND = No de determinaron los índices fiduciaros al ser resultado de un solo dato. NIM = control positivo. Medias con (*) indican diferencias significativas; (**) indica medias con diferencias significativas respecto a NIM; (+) indica diferencias significativas con ambos controles (Prueba de Tukey, P<0.05).

Se resumieron los datos obtenidos para la relación macho – hembra que existió entre los distintos tratamientos con extracto metanólico de *Acaciella angustissima* en la figura 15. En el caso del control negativo (0 ppm), emergieron 17 adultos, 47.06% fueron machos y 52.94%, hembras. A 1000 ppm, el número de adultos aumentó a 18, donde hubo 50.00% de machos y otro 50.00% de hembras. Continuando con 2000 ppm, los adultos también fueron 18, con 55.56% de machos y 44.44% de hembras. Existió un descenso en la tendencia a 4000 y 5000 ppm, las concentraciones más altas. En el caso de la primera, 13 adultos emergieron, donde el 76.92% fueron machos y sólo un 23.08% emergieron como hembras. Para concluir, en 5000 ppm, emergieron 10 adultos, la cantidad más baja en el experimento, donde la mitad (50.00%) fueron machos y la mitad complementaria, hembras. En la figura 15 se muestra una tendencia gráfica entre tratamientos de los adultos totales y su relación macho – hembra para un entendimiento más preciso.

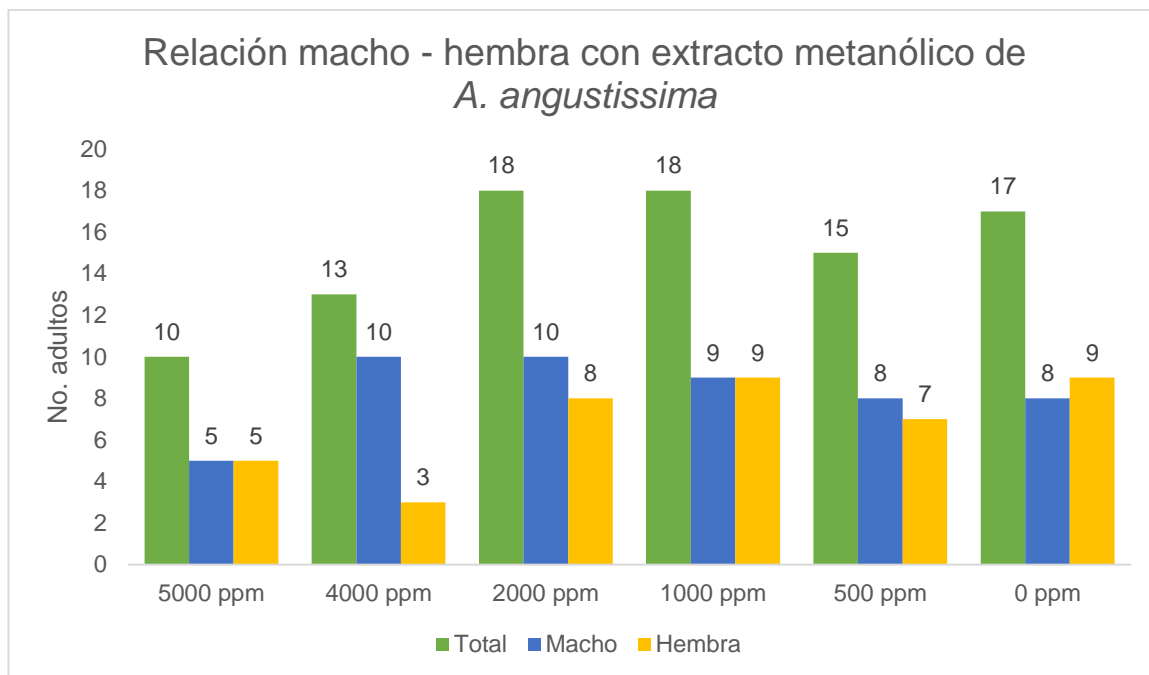


Figura 15. Gráfico sobre la tendencia en la relación macho - hembra con extracto metanólico de vaina de *A. angustissima*.

5.4. Actividad insecticida y juvenomimética del extracto hexánico de vaina de *Acaciella angustissima* contra *Spodoptera frugiperda*.

En el cuadro 11 se enlistan las respuestas obtenidas con los distintos tratamientos aplicados con extracto hexánico de *A. angustissima* en cuanto a mortalidad larval, pupal y acumulada. En mortalidad larval no existió una tendencia clara, comenzó sin muertes en el control negativo, mientras en 1000 ppm a 20%, sin llegar a ser significativamente distinto. Se llega al máximo porcentaje en 2000 ppm, con un 90.00%. Desciende abruptamente en 4000 ppm a sólo un 5% de larvas muertas y finalmente vuelve a subir en 5000 ppm para quedarse en un 45% de mortalidad larval. Por tanto, se puede observar y comparar al control positivo, el cual tiene efecto sobre la mortalidad larval. Yu (1991) investigó mecanismos de resistencia de *Spodoptera frugiperda* a diferentes sustancias tóxicas. Demostró que posee mecanismos de resistencia como el incremento de la desintoxicación mediante oxidasa microsomales e insensibilidad en el sitio objetivo, tal y como ocurrió en la

acetilcolinesterasa. Tales mecanismos pudieron ser las causas de la variación en la actividad insecticida del extracto. La concentración letal media larval para este extracto fue de 6968.37 ppm.

Siguiendo con la mortalidad pupal, el mayor efecto en este caso fue para 4000 ppm, que alcanzó un 80%, siendo estadísticamente distinto de los controles utilizados y de los demás niveles de tratamiento. En 2000 ppm, hubo un 10.00%, pero cabe destacar que esto representa las dos únicas pupas que se formaron, es decir, el porcentaje respecto al total de larvas iniciales fue bajo, pero es un 100% cuando se hace frente al total de pupas formadas. Los niveles de tratamiento restantes no fueron significativamente distintos del control positivo ni del control negativo.

En cuanto a la mortalidad acumulada, mientras que no hubo muertos en el control negativo, en 1000 ppm se alcanzó 55.0% de mortalidad, que fue estadísticamente distinto de 0 ppm. Se llegó a una máxima mortalidad en 2000 ppm, ya que hubo un 100.00% de muertes, dicho de otra forma, ninguna larva o pupa llegó a la fase adulta. En 4000 ppm decayó a 85.00% y terminó con 65.00% en 5000 ppm, ambos estadísticamente iguales al control positivo. Ninguno de los niveles de concentración del extracto fue significativamente distinto del control positivo, es decir, su efecto fue comparable al del nim. La CL_{50} calculada para la mortalidad acumulada fue de 1377.85 ppm.

En el estudio realizado por Romo y col. (2016) se obtuvo extracto hexánico de partes aéreas de *Senecio salignus* y se evaluó la mortalidad del extracto. Los resultados arrojados por el bioensayo fueron una mortalidad larval que se incrementó dramáticamente con respecto al control negativo (10.0%) a partir de 500 ppm (52.5%) hasta llegar al 95.0% y 100% en 4000 ppm y 5000 ppm, respectivamente. Con respecto a la mortalidad pupal, de igual forma se observó un aumento dramático con respecto al control negativo (15%) cuando se llegó a las 500 ppm del extracto (62.5%), con porcentajes superiores al 90% desde 1000 ppm. La concentración letal media fue 440 ppm. El extracto hexánico de vaina de *A. angustissima*, presentó diferencias significativas en mortalidad larval y pupal con respecto al control negativo

a partir de 2000 ppm según la prueba de Tukey realizada, por lo que respecto al extracto obtenido de partes aéreas de *S. salignus* tiene una actividad insecticida menor.

Cuadro 11. Actividad insecticida por extracto hexánico de vaina de *Acaciella angustissima*.

Trat. (ppm)	% Mor. larval	% Mor. pupal	% Mor. acum
5000	45.00±11.40*	20.00±9.18	65.00±10.90*
4000	5.00±5.00**	80.00±9.18 ⁺	85.00±8.19*
2000	90.00±6.88 ⁺	10.00±6.88	100.00±0.00*
1000	20.00±9.18	35.00±10.90	55.00±11.40*
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
NIM	40.00±11.20	40.00±11.20	80.00±9.18
	P<0.001	P<0.001	P<0.001

CL₅₀ (Larval) = 6968.37 ppm (ND)

CL₅₀ (Acumulada) 1377.85 ppm (-49.94 ppm – 2254.22 ppm)

Resultados promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. ND = No de determinaron los índices fiduciaros al ser resultado de un solo dato. CL₅₀ = Concentración letal media. NIM = control positivo. Medias con (*) indican diferencias significativas con control negativo; (**) indica medias con diferencias significativas respecto a NIM; (+) indica diferencias significativas con ambos controles (Prueba de Tukey, P<0.05).

Los resultados para las variables juvenomiméticas con extracto hexánico de *Acaciella angustissima* se muestran en el cuadro 12. En el apartado de la duración larval se observa que la menor duración ocurrió en el grupo de control negativo, siendo significativamente distinto al resto de los grupos. En 1000 ppm, este valor aumentó 41.88 días con un valor que se disparó en 2000 ppm, con 84.50 días, para descender hasta 49.58 días en el tratamiento de 4000 ppm, y ascender ligeramente, pero no de manera estadísticamente significativa, a 51.36 días en 5000 ppm. Todos

fueron estadísticamente distintos del control negativo, no así de la dieta con nim, donde sólo 2000 ppm fue el único nivel que fue diferente. Aun así, se pudo decir que su efecto es comparable.

En cuanto a la duración pupal, cabe destacar que no se obtuvo en el caso del tratamiento de 2000 ppm, ninguna pupa emergió como adulto. Sin embargo, incluso comparados con el control positivo, sólo los tratamientos de 4000 y 5000 ppm fueron mayores a este, aunque no es posible definir su significancia en cuanto a su efectividad en el atraso de la variable

Siguiendo con los pesos de larva a los 10 días, el único caso destacable es el del control negativo, que fue significativamente mayor al resto de los tratamientos, llegando a 4.10 mg de promedio. Los demás resultados fueron similares, estando en el rango de 1 mg.

Una mejor perspectiva de los pesos larvales se pudo observar a los 20 días de iniciado el experimento. La mayor cifra se obtuvo en el control negativo, siendo significativamente distinta y mayor del resto de tratamientos, con 104.00 mg. Luego fue una tendencia descendente; en 1000 ppm, el peso descendió a 39.45 mg. Un apartado particular lo tuvo el tratamiento de 2000 ppm, como en casi todo el experimento, ya que fue de tan sólo 4.58 mg, que es significativamente menor que cualquier otro. Pasando de este último, en 4000 ppm, el peso fue de 23.89 mg, siguiendo la tendencia descendente de la variable y finalizando con 13.89 mg en 5000 ppm, que aunque no significativamente, es menor incluso que el control positivo (15.71 mg).

En la última variable del cuadro, se observa el peso de la pupa a las 24 horas de formación. Nuevamente se obtuvo un peso mayor en el tratamiento de control negativo, con 214.15 mg en promedio. A partir de ahí, la variable sugirió una baja efectividad del extracto en este aspecto. Descendió el valor a 194.25 mg en el nivel de 1000 ppm (que no fue significativamente distinto de los dos controles). En 2000 ppm, sólo se obtuvieron 2 pupas, las cuales promediaron 116.00 mg, este valor nuevamente fue distinto de cualquier otro nivel de tratamiento y/o control. En 4000

ppm el valor se incrementó a 174.00 mg para volver a subir en la concentración más alta (5000 ppm) con 201.82, muy parecido de nueva forma al control positivo (200.80 mg).

Estudios realizados con extractos de hojas de *Senna crotalarioides* en *S. frugiperda* (Quintana y col., 2016) mostraron duración larval de 23.7, 24.8, 28.7, 29.3 y 32.8 días para 500, 1000, 2000, 4000 y 5000 ppm respectivamente, que son menores que los obtenidos en el bioensayo realizado en el presente trabajo. Sin embargo, comparados al control negativo, en el artículo de Quintana y col., se obtuvieron diferencias significativas en todos los niveles de concentración, caso distinto al de este estudio, donde se observan diferencias significativas con el control negativo sólo a partir de 1000 ppm. En el caso de la duración pupal, los resultados para *S. crotalarioides* fueron 11.8, 13.9, 16.8, 19.7 y 22.5 días para 500, 1000, 2000, 4000 y 5000, respectivamente. Sus resultados fueron menores con respecto a los arrojados por este trabajo, excepto en 5000 ppm. También cabe destacar que se obtuvo significancia estadística contra el control negativo a partir de 1000 ppm para *S. crotalarioides*, mientras que no pudo obtenerse en este estudio por la mortalidad pupal de 100% en 2000 ppm. Por tanto, el efecto sobre la duración larval del extracto es bajo.

Por último, para el peso pupal, se consiguieron resultados con tendencia descendente para el extracto de *S. crotalarioides*, siendo estadísticamente distintos con respecto al control negativo todas las concentraciones, lo que demuestra un efecto inhibitorio del extracto. En este trabajo, la tendencia no es clara, siendo sólo 2000 y 4000 ppm estadísticamente distintos al control negativo del bioensayo, por lo que se puede decir que el extracto hexánico de *A. angustissima* no posee efecto sobre el peso de la pupa.

Cuadro 12. Actividad juvenomimética extracto hexánico de vaina de *Acaciella angustissima*.

Trat. (ppm)	Dur. Larval (días)	Dur. Pupal (días)	Peso 10 días (mg)	Peso 20 días (mg)	Peso pupal (mg)
5000	51.36±3.12*	22.57±0.97	1.45±0.29*	13.67±4.31*	201.82±9.98
4000	49.58±1.53*	19.00±1.00	1.05±0.05*	23.89±3.15*	174.00±5.76
2000	84.50±1.50 ⁺	ND	1.10±0.07*	4.58±0.65*	116.00±6.00 ⁺
1000	41.88±1.47*	17.89±0.89	1.80±0.41*	39.45±8.52*	194.25±7.47
0	34.30±0.91	17.05±0.60	4.10±0.75	104.00±15.50	214.15±5.44
NIM	47.92±2.83	18.25±2.06	1.60±0.29	15.71±5.05	200.80±11.50
	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001	P<0.001

Resultados promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. ND = No de determinaron los índices fiduciaros al ser resultado de un solo dato. NIM = control positivo. Medias con (*) indican diferencias significativas; (**) indica medias con diferencias significativas respecto a NIM; (+) indica diferencias significativas con ambos controles (Prueba de Tukey, P<0.05).

Las relaciones macho – hembra para el extracto hexánico de *A. angustissima* se muestran en la figura 16. En el control negativo, hubo un total de 20 adultos, donde el 50.00% fueron machos y el restante 50.00% fueron hembras. El tratamiento de 500 ppm, tuvo una cantidad final de 8 adultos, de los que 25.00% fueron machos y 75.00%, hembras. Para 1000 ppm, la cantidad de adultos ascendió ligeramente a 9, donde los machos representaron el 55.56% y las hembras un 44.44%. El tratamiento de 2000 ppm no tuvo adultos, por lo que no hubo relación macho – hembra. En 4000 ppm, tan sólo emergieron 3 adultos, todos hembra (100%). Finalmente para 5000 ppm, se obtuvieron 7 adultos, con un 71.43% de machos y un 28.57% de hembras.

No hubo una tendencia ni en los adultos totales emergidos, ni en la relación macho – hembra.

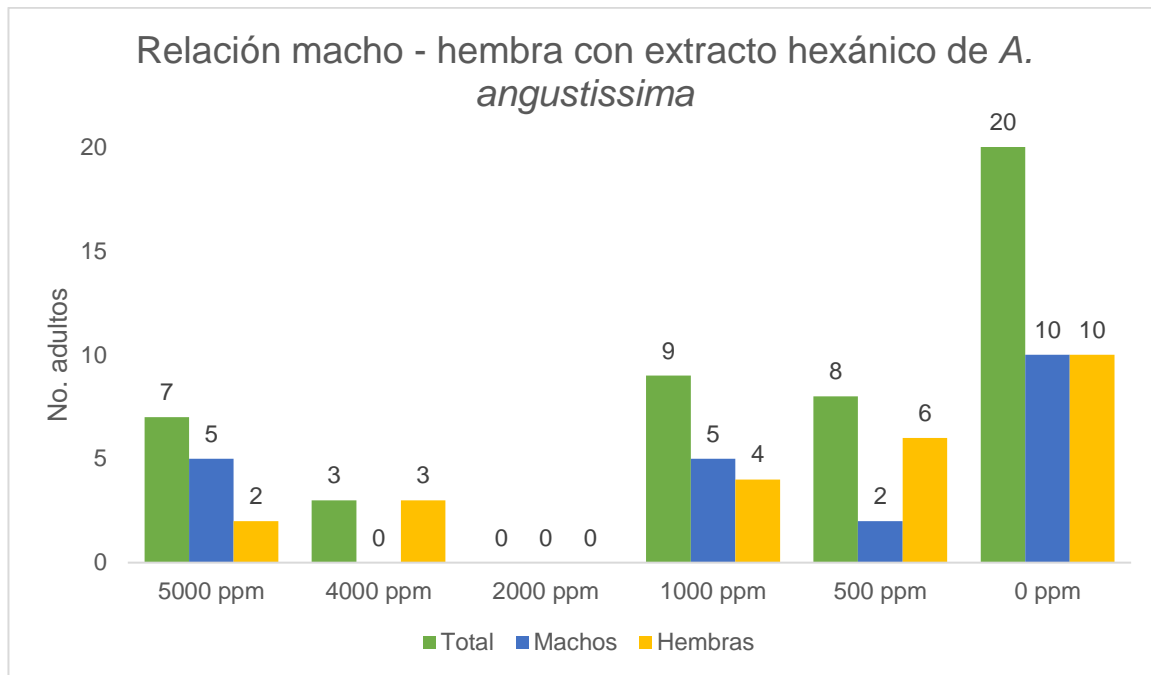


Fig. 16. Gráfico sobre la tendencia en la relación macho - hembra con extracto hexánico de vaina de *A. angustissima*

6. CONCLUSIONES

El extracto hexánico de vaina de *Acaciella angustissima* mostró actividad insecticida y juvenomimética en *Spodoptera frugiperda* con una concentración letal media acumulada de 1377.85 ppm y con actividad juvenomimética a partir de 1000 ppm.

El extracto metanólico de vaina de *Acaciella angustissima* presentó baja actividad insecticida en *Spodoptera frugiperda*, sin ser significativamente distinta del control negativo, y no presentó actividad juvenomimética respecto al control negativo. La concentración letal media total de 5480.23 ppm.

Las pruebas fitoquímicas realizadas mostraron que ambos extractos contienen alcaloides y triterpenos y/o esteroides. Sólo difirieron en taninos condensados, para el que el extracto metanólico de vaina de *A. angustissima* dio positivo.

7. REFERENCIAS

Abbas A, Luttrell R, Pittre H, Davis F. Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton. *Environ. Entomology*. **1989**; 18: 881 - 885.

Alonso J, Rico F, Campos J, Guevara R, Torres I, Cruz A. Establishment of *in vitro* regeneration system for *Acaciella angustissima* (Timbe) a shrubby plant endemic of México for the production of phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*. **2016**; 86: 49–57

Andrés C, Medina A, Llorach R, Urpi M, Khan N, Chiva G, Zamora R, Rotches M, Lamuela R. Phenolic compounds: chemistry and occurrence in fruits and vegetables. *Fruit and vegetable Phytochemicals, Chemistry, Nutritional Value and Stability*. **2010**, 53-88.

Angulo J. Manejo del Gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas, [monografía de internet]. **2000**. [Consultado 2017, 10, 08]; Disponible en: <http://www.turipana.org>

Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Revista REDUCA, Serie Fisiología Vegetal*. **2009**; 3: 119-125.

Ayres M, Clausen T, MacLean S, Redman A, Reichardt P. Diversity of structure and antiherbivore activity in condensed tannins. *Ecology*. **1997**. 78: 1696-1712.

Badii M, Landeros J, Cerna E. Manejo Sustentable de Plagas o Manejo Integral de Plagas, un apoyo al desarrollo sustentable. *CULCyT*. **2007**; 23: 13-14.

Barbehenn R, Cheek S, Gasperut A, Lister E, Maben R. Phenolic compounds in red oak and sugar maple leaves have prooxidant activities in the midguts of *Malacosoma disstria* and *Orgyia leucostigma* caterpillars. *Journal of Chemistry Ecology* **2005**. 31: 969-988.

Barbehenn R, Constabel C. Tannins in plant – herbivore interactions. *Phytochemistry*. **2011**. 72: 1551 – 1565.

Barbehenn R, Jaros A, Lee G, Mozola C, Weir Q. Tree resistance to *Lymantria dispar* caterpillars: importance and limitations of foliar tannin composition. *Oecologia*. **2009**; 159: 777-778.

Bengoechea P, Garzón A, Hiernaux L. Prevención del estado sanitario de cultivos ecológicos y aplicación de productos. Madrid: Ediciones Paraninfo. **2014**: 85 – 88.

Buntin G, Wiseman B. Growth and development of two polyphagous lepidopterans fed high- and low-tannin *Sericea lespedeza*. *Entomol. Exp. Appl.* **1990**. 55: 69-78.

Capinera J. Featured creatures, [monografía de internet]. **2016**. [consultado 2017, 10, 10]; Disponible en: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall_armyworm.htm

Cazmuz A, Juárez M, Socías M, Murúa G, Prieto S, Medina S, Willink E, Gastaminza G. Revisión de los hospederos del gusano colloreo del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* **2010**; 69: 209-231.

CESAVEG. Campaña de manejo fitosanitario de cultivos básicos, maíz. Guanajuato: Editorial del CESAVEG. **2007**: 20.

Chanda S, Dudhatra S, Kaneria M. Antioxidative and antibacterial effects of seeds and fruit rind of nutraceutical plants belonging to Fabaceae family. *Food Funct.* **2010**. 1: 308 – 315.

Clavijo S, Pérez G. Protección y Sanidad Vegetal. Caracas: Editorial Fundación Polar. **2000**: 345-36.

Croteau R, Kutchan T, Lewis N. Natural products (Secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. **2000**; 24: 1367.

Del Pino V, Lajolo F. Efecto inhibitorio del frijol carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la digestibilidad de faseolina por dos sistemas multienzimáticos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2003**. 23: 49-53.

FAO. Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades en Cultivos Hidropónicos en Invernadero. México: Editorial FAO. **2002**: 13-15.

FAO. Ciclo Biológico del Gusano Cogollero del Maíz (en América Latina), [infografía de internet]. **2017**. [consultado 2018, 09, 25]; Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i7424s.pdf>

Feregrino A, Torres I, Vargas M, Munguía P, Loarca G, Mendoza G, Ocampo S, Rico R, Guevara R. Antioxidant and antimutagenic activities of *Acacia pennatula* pods. Journal of Scientific and Industrial Research. **2011**; 70: 859–864.

FIRA. Panorama Agroalimentario. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial, Maíz 2016. México: Editorial FIRA. **2016**: 2; 14 - 17.

FUNSALPRODESE. Elaboración de plaguicidas orgánicos [monografía de internet]. **2000**. [consultado 2017, 10, 09]; Disponible en: http://funsalprodese.org.sv/pdf/boletines_informativos/Plaguicidas_organicos.pdf

García G, Tarango S. Manejo Biorracional de gusano cogollero en maíz. México: Ediciones INIFAP. **2009**: 5 - 22.

Gómez M. Producción, comercialización y certificación de la agricultura orgánica en América Latina. México: Editorial de la Universidad de Chapingo. **2003**: 291.

Grubinger V. Bio-rational pesticides [monografía de internet]. **2009**. [consultado 2017, 10, 08]. Disponible en <http://www.uvm.edu/vtvegandberry>

Karowe D. Differential efecto of tannic acid on two tree-feeding Lepidoptera: implications for theories of plant-herbivore chemistry. Oecologia. **1989**. 80: 507-512.

Khanbabaee K, van Ree T. Tannins: classification and definition. Nat. Prod. Rep. **2001**; 18: 641-9.

Marín R, Veloz R, Veloz R, Guzmán S, Loarca G, Cardador A, Guevara L, Miranda R, Torres I, Pérez C, Herrera G, Villaseñor F, González M, Guevara R. Antimutagenic and antioxidant activities of quebracho phenolics (*Schinopsis balansae*) recovered from tannery wastewaters. Bioresour. Technol. **2009**; 100: 434–439.

Nava C, Morales E. Efectividad de insecticidas microbiales y convencionales para el control de gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y su impacto en las poblaciones de insectos depredadores de maíz forrajero en la comarca lagunera. Memorias XXVII Congreso Nacional de Control Biológico. Soc. Mex. Control Biológico. **2004**: 344 - 347.

Oerke E. Crop losses to pest. J. Agric. Sci. **2006**; 144: 31 - 43

Ortega A. Insectos nocivos del maíz. México: Editorial CIMMYT. **1987**: 28 - 30.

Pérez E, Pliego Y. El timbre (*Acacia angustissima* [Mill.] Kuntze) una especie con potencial curtiente a nivel industrial. Revista de Geografía Agrícola. **1993**; 21: 159–162.

Pérez N. Alternativas al control químico de plagas. REDESMA. **2010**; 4: 2-3.

Pérez S, Zavala M, González M, Cárdenas N, Ramos M. Bioactivity of *Carica papaya* (Caricaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Molecules. **2011**; 16: 7502 – 9.

PLAGBOL. Manejo Integrado de Plagas, una alternativa sostenible. Bolivia: Editorial PLAGBOL. **2015**: 5-7.

Poisot A, Speedy A, Kueneman E. Good Agricultural Practices [monografía de internet]. **2007**. [consultado 2017, 10, 10]. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2008434569>

Quintana C, Ramos M, Figueroa R, Bah M, Rico M, Pacheco J. Actividad insecticida e insectistática de *Senna crotalarioides* (Irwin y Barneby, 1979) (Fabaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Entomología mexicana. **2016**. 3: 171 – 176.

Ramos M, Romo D, Martínez D, Gaspar A, López S, Pacheco J, Evaluación del extracto clorofórmico de jarilla (*Senecio salignus*) contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Entomología Mexicana. **2014**. 1: 126 – 129.

Reed J. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*. **2010**; 73: 1516–1528.

Reséndiz Z, López J, Estrada B, Osorio E, Pecina J, Mendoza M. Efectos genéticos de la resistencia a *Spodoptera frugiperda* en líneas de maíz derivadas de germoplasma nativo de Tamaulipas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. **2017**. 6(8): 1329 – 1341.

Rico M, Bachean S. A taxonomic revision of *Acaciella* (Leguminosae, Mimosoideae). *An. Jardín Botánico Madrid*. **2006**; 63, 189–244.

Rincón R, Gutiérrez F. Biological characteristics of *Acaciella angustissima* (mill.) Britton & Rose in its natural habitat and assessment of its bark potential in Chiapas, México. *Agrociencia*. **2008**; 42: 129–137.

Rogg H. Manejo Integrado y Control Biológico de Plagas y Enfermedades, Una Guía Teórica. Quito: Editorial Proexant. **2000**: 53-54;

Romo D, Ávila M, Ramos M, Barranco J, Rodríguez S, Romero S, Aldeco E, Pacheco J, Rico M. Juvenomimetic and Insecticidal Activities of *Senecius salignus* (Asteraceae) and *Salvia microphylla* (Lamiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*. **2016**. 99(3): 345 – 351.

SAGARPA. Relación de los principales problemas fitosanitarios. [serie de internet]. **2015**. [consultado 2018, 10, 08]. Disponible en http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/potencialproductivo/especificos/problemas_fitosanitarios.pdf

Salinas D, Aldana L, Valdés M, Hernández M, Juárez J, Rodríguez T. Actividad insecticida de *Prosopis laevigata* en *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomol. Mex*. **2009**. 48(2): 51 – 57.

Samia R, de Oliveira R, Moscardini V, Carvalho G. Effects of Aqueous Extracts of *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae) on the Growth and Reproduction of *Spodoptera*

frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. **2016**; Mayo 2016.

Sepúlveda G, Porta H, Rocha M. La participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. **2003**; 3: 355-363.

Silva G, Lagunes A, Rodríguez J, Rodríguez D. Insecticidas vegetales; una vieja-nueva alternativa en el control de plagas. Revista Manejo Integrado de Plagas (CATIE). **2002**.

Stansly P, Liu X, Schuster D, Dean D. Role of biorational insecticides in management of *Bernisia* sp. Taxonomy, biology, damage, control and management. **1996**; 12: 605 - 615.

Universidad Complutense de Madrid. Manejo de los plaguicidas botánicos [serie de internet]. **2014**. Consultado [2018, 10, 12]. Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-79266/ManejoPlaguicidas.pdf>

Universidad Zamorano. Manejo Integrado de Plagas en el cultivo de maíz. Managua: Editorial ZAMORANO. **1996**: 77.

Vargas M, Munguía P, Cruz A, Guerrero B, González M, Feregrino A, Mendoza S, Loarca G, Torres I, Hernández M, Guevara R. Bioactivity and gene expression studies of an arbustive Mexican specie *Acaciella angustissima* (Timbe), Industrial Crops and Products. **2014**; 52: 649–655.

Vázquez A, Álvarez E, López J, Wall A, De la Rosa L. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Tecnociencia. **2012**. 2: 84-93.

Vázquez A, Pérez L, Díaz R. Biomoléculas con Actividad Insecticida: Una Alternativa para Mejorar la Seguridad Alimentaria. Sociedad. Mexicana de Nutrición y tecnología de los Alimentos. **2007**; 5: 306-307.

Veloz R, Marín R, Veloz F, Rodríguez R, Torres I, González M, Anaya J, Guevara L, Feregrino A, Loarca G, Guevara R. Antimicrobial activities of cascalote (*Caesalpinia*

cacalaco) phenolics-containing extract against fungus *Colletotrichum lindemuthianum*. *Industrial Crops Production*. **2010**; 31: 134–138.

Verde M, García S, Rivas C. *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona: OmniaScience. **2016**: 1-40.

Yu S. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **1991**; 39(1): 84-91.

Zavala M, Pérez S, Romo D, Cárdenas N, Ramos M. Activity of Four *Salvia* Species Against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Southwestern Entomologist*. **2013**. 38: 67-73.