



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química

“Evaluación de la actividad biológica de *Heterotheca*
inuloides y del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol contra
Spodoptera frugiperda”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

I.Q.A. Benjamín Rodríguez Sánchez

Dirigido por

Dr. Miguel Angel Ramos López

Co-dirigido por

Dr. José Luis Rodríguez Chávez

Querétaro, Qro, 10 de febrero 2023.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



Evaluación de la actividad biológica de *Heterotheca*
inuloides y del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol contra
Spodoptera frugiperda

por

Benjamín Rodríguez Sánchez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-246032-0323-323



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología
Ambiental

“Evaluación de la actividad biológica de *Heterotheca inuloides* y del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol contra *Spodoptera frugiperda*”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Ambiental

Presenta

I.Q.A. Benjamín Rodríguez Sánchez

Dirigido por

Dr. Miguel Angel Ramos López

Co-dirigido por

Dr. José Luis Rodríguez Chávez

Miguel Angel Ramos López
Presidente

José Luis Rodríguez Chavez
Secretario

Juan Campos Guillén
Vocal

Dr. Aldo Amaro Reyes
Suplente

Dra. Diana Issell Sandoval Cárdenas

Centro Universitario, Querétaro, Qro, 2023

DEDICATORIAS

Para mi familia que siempre están ahí para apoyarme, en especial para mi mamá y mis hermanos.

Para Karlita por siempre animarme y brindarme su compañía en todo momento.

Para mis seres queridos que ya no están aquí, pero que permanecen siempre en mis recuerdos.

Para mis amigos que no me han abandonado.

Para mis alumnos del colegio.

¡Esto es para ustedes siiiiiiiu!

AGRADECIMIENTOS

A todo mi comité por el apoyo brindado para la realización de mi tesis.

Al programa FOPER por el financiamiento otorgado para este proyecto.

Al CONACYT por el apoyo económico en mi periodo estudiantil.

Al personal administrativo por la atención y acompañamiento durante todo el proceso

A todos mis compañeros de laboratorio por las enseñanzas que me dieron

ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
1.INTRODUCCIÓN	1
2.ANTECEDENTES	2
2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i>	2
2.1.1 Distribución	2
2.1.2 Ciclo de vida	2
2.1.3 Etapa larval	3
2.1.4 Etapa pupal	3
2.1.5 Etapa adulta	4
2.1.6 Afectaciones a cultivos	5
2.2 Maíz	5
2.2.1 Importancia	5
2.2.2 Producción nacional	6
2.2.3 Características de la planta	6
2.3 Métodos de control de <i>Spodoptera frugiperda</i>	6
2.3.1 Físico	6
2.3.2 Mecánico	6
2.3.3 Agronómico	7
2.3.4 Biológico	7
2.3.5 Químico	8
2.3.6 Botánico	9
2.4 Generalidades de <i>Heterotheca inuloides</i>	10
3. HIPOTESIS	12
4.OBJETIVOS	13
5.METODOLOGÍA	14
5.1 Sitio de estudio	14

5.2 Cría de <i>Spodoptera frugiperda</i> en condiciones de laboratorio	14
5.3 Obtención de los extractos acetónico y metanólico de <i>Heterotheca inuloides</i>	15
5.4 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática de los extractos acetónico y metanólico de <i>Heterotheca inuloides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	16
5.5 Identificación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno	17
5.6 Evaluación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno	18
5.7 Análisis estadístico	18
6.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
6.1 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática de los extractos acetónico y metanólico de <i>Heterotheca inuloides</i> contra <i>Spodoptera frugiperda</i>	19
6.2 Identificación y separación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno	29
6.3 Evaluación de la actividad insecticida del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno contra <i>S. frugiperda</i> .	32
7.CONCLUSIONES	35
8.REFERENCIAS	36

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág
1. Composición de la dieta	15
2. Bioensayo preliminar del extracto acetónico de la muestra 1 de <i>Heterotheca inuloides</i> .	19
3. Bioensayo preliminar del extracto acetónico de la muestra 2 de <i>Heterotheca inuloides</i> .	20
4. Evaluación de la actividad insecticida del extracto acetónico de la muestra 1 de <i>Heterotheca inuloides</i> .	21
5. Actividad insecticida del extracto acetónico de la muestra 2 de <i>Heterotheca inuloides</i>	22
6. Bioensayo preliminar del extracto metanólico de la muestra 1 de <i>Heterotheca inuloides</i>	23
7. Bioensayo preliminar del extracto metanólico de la muestra 2 de <i>Heterotheca inuloides</i> .	24
8. Actividad insecticida del extracto metanólico de la muestra 1 de <i>Heterotheca inuloides</i> .	25
9. Actividad insecticida del extracto metanólico de la muestra 2 de <i>Heterotheca inuloides</i> .	26
10. Actividad insecticida del compuesto 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Larva de <i>S. frugiperda</i>	3
2. Pupas de <i>S. frugiperda</i>	4
3. Adulto de <i>S. frugiperda</i>	4
4. Larvas en vasos plásticos	17
5. Larvas muertas con el extracto acetónico de la muestra 1	22
6. Larvas muertas con el extracto acetónico de la muestra 2	23
7. Larvas muertas con el extracto metanólico de la muestra 1	26
8. Larvas muertas con el extracto metanólico de la muestra 2	27
9. Cromatograma del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno	30
10. Cromatograma del extracto acetónico de la muestra 1.	30
11. Cromatograma del extracto acetónico de la muestra 2	31
12. Cromatograma del extracto metanólico de la muestra 1	31
13. Cromatograma del extracto metanólico de la muestra 2.	32
14. Larvas muertas con el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno	33

RESUMEN

El uso de plaguicidas químicos sintéticos es muy común para el control de insectos plaga en los cultivos, lo que ocasiona su acumulación en el ambiente. Debido a esta, además de sus características de persistencia y estabilidad, estas sustancias llegan a afectar a otros organismos que no son los insectos plaga. En México el consumo de productos derivados del maíz es alto por lo que la producción de este es trascendental para los sectores económico, cultural y nutricional del país. El maíz también es afectado por las plagas, principalmente por *Spodoptera frugiperda*, la cual de igual forma es comúnmente controlada mediante plaguicidas químicos sintéticos, contribuyendo al impacto ambiental generado por estas sustancias. La presencia de plaguicidas químicos sintéticos en el ambiente origina contaminación en agua, suelo y aire, perjudicando a los organismos que habitan en dichos compartimentos ambientales e incluso generando problemas toxicológicos en seres humanos. Dentro de las alternativas para disminuir el impacto ambiental por plaguicidas químicos sintéticos se han estudiado los extractos naturales de diferentes plantas, los cuales han presentado alguna actividad insecticida debido a los metabolitos que estas sintetizan. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad biológica de dos extractos acetónicos y dos metanólicos de la planta *Heterotheca inuloides* así como del compuesto 7-hidroxi-3,4-dihidrocajaleno a partir de la adición de cada uno de estos a diferentes concentraciones sobre la dieta del insecto, encontrando actividad insecticida con cada uno de ellos y registrando CL₅₀ acumuladas de 401.5 y 609.8 ppm por parte de los extractos acetónicos y de 1033.8 y 681.3 ppm en el caso de los extractos metanólicos. Por otro lado, el 7-hidroxi-3,4-dihidrocajaleno también registró actividad insecticida contra las larvas, arrojando una CL₅₀ acumulada de 29.1 ppm.

Palabras clave: extractos, acetónico, metanólico, plaguicidas, *Spodoptera frugiperda*, *Heterotheca inuloides*, 7-hidroxi-3,4-dihidrocajaleno.

ABSTRACT

The use of synthetic chemical pesticides is very common to control insect pests in crops, which causes their accumulation in the environment. Due to this, in addition to their characteristics of persistence and stability, these substances come to affect other organisms that are not pest insects. In Mexico, the consumption of products derived from corn is high, so the production of this is transcendental for the economic, cultural and nutritional sectors of the country. Maize is also affected by pests, mainly *Spodoptera frugiperda*, which in the same way is commonly controlled by synthetic chemical pesticides, contributing to the environmental impact generated by these substances. The presence of synthetic chemical pesticides in the environment causes contamination in water, soil and air, harming the organisms that inhabit these environmental compartments and even generating toxicological problems in humans. Among the alternatives to reduce the environmental impact of synthetic chemical pesticides, the natural extracts of different plants have been studied, which have presented some insecticidal activity due to the metabolites that they synthesize. The objective of this work was to determine the biological activity of two acetone and two methanolic extracts from the *Heterotheca inuloides* plant as well as the compound 7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene from the addition of each of these at different concentrations on the insect diet, finding insecticidal activity with each of them and recording accumulated LC50 of 401.5 and 609.8 ppm for the acetone extracts and 1033.8 and 681.3 ppm in the case of the methanolic extracts. On the other hand, 7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene also registered insecticidal activity against larvae, yielding an accumulated LC50 of 29.1 ppm.

Keywords: extracts, acetone, methanolic, pesticides, *Spodoptera frugiperda*, *Heterotheca inuloides*, 7-hydroxy-3,4-dihydrocadalene

1.INTRODUCCIÓN

La aplicación de compuestos químicos sintéticos es el método de control más común para combatir a las plagas, ya que presenta las ventajas de ser rápido y eficaz en contra de los insectos, por lo que anualmente se aplican toneladas de estas sustancias sobre los cultivos. Uno de los principales cultivos a nivel nacional y mundial es el maíz, el cual es consumido y utilizado por una gran cantidad de industrias del giro alimenticio, la importancia que tiene este cultivo provoca que su demanda sea alta año con año, por lo que las plagas son una amenaza que siempre se busca controlar mediante plaguicidas químicos sintéticos para no comprometer la producción de este. *Spodoptera frugiperda*, es un insecto plaga que se alimenta de cultivos como el frijol, arroz, sorgo, soya entre otros, sin embargo, esta plaga ha sido reportada como la más importante para el maíz la cual es la plaga principal del maíz, cultivo importante a nivel mundial y nacional. El uso de plaguicidas químicos sintéticos trae consigo una problemática ambiental importante, pues debido a su baja tasa de degradación estos compuestos permanecen en el ambiente por un tiempo prolongado, generando un foco de contaminación para otros organismos e incluso representando un factor de riesgo importante para la salud y vida humana. Para disminuir el uso de plaguicidas químicos sintéticos se ha estudiado el uso de extractos naturales de diferentes plantas como alternativas de control con un menor impacto ambiental. Estos extractos naturales son una mezcla de diferentes metabolitos sintetizados por la propia planta, dentro de los cuales algunos confieren la actividad insecticida, como lo son los compuestos terpenicos, fenoles y flavonoides. Se sabe que el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno, es el compuesto mayoritario del extracto de *Heterotheca inuloides*, el cual es de tipo sesquiterpenico, por lo que es importante evaluar este compuesto y los extractos de la planta, con el propósito de conocer su potencial actividad insecticida.

2. ANTECEDENTES

2.1 *Spodoptera frugiperda*

2.1.1 Distribución

Spodoptera frugiperda comúnmente conocido como gusano cogollero del maíz es un insecto polífago que genera múltiples pérdidas sobre diferentes cultivos, estableciéndose principalmente sobre el continente americano, específicamente en regiones tanto tropicales como subtropicales de América del Norte, Central y del Sur (Clavijo y Pérez, 2000; Casmuz et al. 2010).

2.1.2 Ciclo de vida

Spodoptera frugiperda tiene un ciclo de vida que varía dependiendo de la estación del año, durando aproximadamente un mes en verano, mes y medio en primavera y hasta 90 días en la temporada invernal. El ciclo inicia cuando la hembra coloca varias masillas de huevos sobre las hojas de la planta. En promedio cada hembra puede poner de 1,500 a 2,000 huevos agrupados en masillas de 100 a 150 huevos cada una (Casmuz et al., 2010). Los huevos son de color blanco aperlado, los cuales son protegidos por la hembra con escamas y secreciones bucales que impiden que se dañen. En promedio los huevos pueden llegar a medir entre 0.4 mm de diámetro y 0.3 mm de altura (Capinera, 2000). Después de cumplir con su etapa de huevo las larvas eclosionan y empiezan a moverse por la planta, alimentándose de ella y dañándola. En la última parte del ciclo de vida, la larva desarrolla una carcasa de color café rojizo e inicia su etapa pupal que dura alrededor de 10 días, para posteriormente emerger como una polilla adulta (Casmuz et al., 2010; Hardke et al., 2015).

2.1.3 Etapa larval

El color de las larvas puede variar, pero por lo regular son de color pardo oscuro, con tres rayas más claras de forma longitudinal (Figura 1). En el área superior de la cabeza presentan una línea blanquecina, la cual tiene una forma semejante a una “Y”. Durante su etapalarval, los individuos pasan por seis estadios y llegan a medir hasta 35 mm de longitud (Angulo, 2000; Capinera, 2002).



Figura 1. Larva de *Spodoptera frugiperda* (Fuente propia).

2.1.4 Etapa pupal

En el estado pupal muestran un color café rojizo y llegan a medir entre 14 a 17 mm de longitud, con dos espinas o ganchos en forma de “U” invertida en su extremo abdominal (Angulo, 2000; Capinera, 2002).



Figura 2. Pupas de *Spodoptera frugiperda* (Fuente propia).

2.1.5 Etapa adulta

En su etapa adulta o de polilla su longitud puede ser de entre 32 a 40 mm con las alas extendidas y son de color café grisáceo, en el caso de los machos, estos presentan un par de manchas en las esquinas de las alas, mientras que en las hembras no existen manchas presentando un color más regular o uniforme (Capinera, 2014).



Figura 3. Adulto de *Spodoptera frugiperda* (Fuente propia).

2.1.6 Afectaciones a cultivos

Además de su alta capacidad para adaptarse a diferentes climas, otro factor que ayuda a que esta plaga afecte a los cultivos, es que en su etapa adulta puede trasladarse en diferentes parcelas, volando hasta 100 km por noche, impactando así en diferentes zonas de cultivo (Castélum et al., 2012). El gusano cogollero afecta a diversos cultivos como: el sorgo, arroz, soya, frijol, cacahuate, cebolla, pepino, col y papa, pero el cultivo más afectado anualmente por este insecto es el maíz (Yáñez, 2007). El cual ha sido reportado con afectaciones en todos sus estados fenológicos, sin embargo, se ha encontrado que las larvas tienen una preferencia para establecerse en plantas jóvenes (Murúa et al., 2006). Durante la etapa de desarrollo inicial de la planta, esta puede ser afectada de 2 maneras por las larvas de *S. frugiperda*: la primera se da cuando la larva hace cortes en la zona cercana al suelo, lo que genera un retraso en el crecimiento de la planta y la segunda se da mediante una defoliación parcial o total de la planta. Cuando la planta alcanza un desarrollo más adulto, el daño por las larvas se centra en el cogollo (se da una perforación y defoliación), lo que ocasiona que la planta pierda la capacidad de seguir desarrollándose debido a la casi nula capacidad de realizar la fotosíntesis (Capinera, 1999).

2.2 Maíz

2.2.1 Importancia

A nivel mundial el maíz es el cultivo con mayor demanda y producción debido a que de este se derivan diferentes productos de tipo alimenticio e incluso de tipo industrial. Además, el cultivo y todo el proceso para transformarlo en otros productos genera diferentes fuentes de empleo, por lo que también su producción es de gran importancia económica y social (FIRA, 2016).

2.2.2 Producción nacional

A nivel nacional las entidades de: Sinaloa, Jalisco y el Estado de México, son las de mayor producción del maíz (FIRA, 2016). El consumo anual per cápita del maíz blanco es de aproximadamente 196.4 Kg, siendo la producción de tortillas la actividad que más demanda del cultivo requiere (SAGARPA, 2017).

2.2.3 Características de la planta

De manera general la planta de maíz presenta un tallo la cual puede crecer de 1 a 4 m de altura y sin la presencia de ramas. Sus hojas pueden medir de 50 a 90cm de longitud, estas se encuentran abrazadas al tallo y son de gran tamaño, paralelinervias y en forma de lanza, la cual son filosas (SIAP, 2014). Esta planta es monoica, es decir cuenta inflorescencias masculinas y femeninas (Tropicos, 2019).

2.3 Métodos de control de *Spodoptera frugiperda*

2.3.1 Físico

Dentro del método físico se consideran algunas prácticas culturales, como aumentar la cantidad de luz solar, agregar agua caliente para aumentar la temperatura, entre otros para evitar que el insecto se establezca sobre el cultivo, sin embargo, la mayoría de las veces estas prácticas son muy poco eficaces (Jiménez-Martínez, 2009).

2.3.2 Mecánico

Este método consiste en el uso de barreras como las mallas plásticas que impiden el paso de las polillas a la planta. Otra técnica que suele utilizarse es eliminar la plaga manualmente, localizando directamente masas de huevos o las larvas

establecidas en la planta. Este método es muy poco práctico por lo que suelen emplearse otras alternativas de control (CEDECO, 2004).

2.3.3 Agronómico

Dentro de este tipo de control una de las técnicas más utilizadas consiste en ir variando el tipo de cultivo, evitando que los insectos plagas se perpetúen en estos. Por otro lado, la preparación del terreno y eliminación de malezas también es utilizada como estrategia de control agronómico, pues las pupas quedan expuestas ante depredadores y condiciones adversas. Para emplear este método se requiere una planeación y gran cantidad de tiempo. Lo que resulta una desventaja ante otros métodos (Cortez y Pérez, 2014).

2.3.4 Biológico

Dentro de las alternativas de control biológico, una de las más empleadas es el uso de maíz genéticamente modificado o maíz Bt, el cual es diseñado para presentar resistencia y tolerancia a la plaga a partir de la producción de proteínas Cry, las cuales actúan como toxinas para *S. frugiperda* (Machado et al., 2020). Otra estrategia de tipo biológica implica el uso de virus que provocan afectaciones en contra de las larvas, provocándoles la muerte. Dentro de los virus más estudiados se encuentran: Rhabdovirus (Schroeder et al., 2019), ascovirus (Zaghloul et al. 2017) y ichnovirus (Visconti et al. 2019). Existe otra técnica que se basa en la introducción de enemigos naturales para el control de *S. frugiperda*, como lo son los adultos de *Polistes erythrocephalus*, mejor conocida como avispa patiamarilla, los cuales son depredadores naturales de la plaga. Otras avispas que permiten el control de *S. frugiperda* son *Telonomus* sp., *Euplectrus plathypenae*, *Chelonus insularis* Rogas sp. y *Archytas marmoratus*, las cuales tienen un efecto parasitoide sobre la plaga. Por otro lado, existe la una alternativa que implica el uso de hongos entomopatógenos del género *Beauveria*, *Metarhizium* e *Isaria* los cuales son

capaces de colonizar al insecto hasta provocarles la muerte. Una desventaja de este método radica en la rapidez con la que estos organismos afectan a la larvas, ya que podrían tardar en adecuarse a las condiciones del medio (Pérez, 2010; Peteira et al.,2011).

2.3.5 Químico

Para el control de *S. frugiperda* existe una gran diversidad de plaguicidas químicos sintéticos, siendo los más utilizados los carbamatos, los organofosforados y los piretroides. Las ventajas de los métodos químicos son principalmente su efectividad, la rapidez con la que atacan al organismo blanco y su facilidad de manejo para el agricultor (Grijalba et al., 2018; Rogg, 2000). Entre las desventajas que tienen estas sustancias, está su alta toxicidad para los seres humanos, ya que el consumo de maíz y otros cultivos que han sido rociados con plaguicidas está asociado a carcinogénesis y neurotoxicidad. Por otro lado, el uso continuo de estos químicos provoca alteraciones en la dinámica de otros seres vivos en el ecosistema, desarrollo de resistencia, riesgos para la salud de los trabajadores agrícolas, intoxicaciones accidentales así como contaminación en suelo, aire y agua (Grijalba et al., 2018). Se ha reportado que el número de insectos polinizadores a nivel mundial ha disminuido debido a la exposición y consumo de néctar contaminado con plaguicidas sintéticos (Agatz et al., 2020). Por otra parte, diferentes estudios han señalado la conexión entre defectos de nacimiento, prematuridad y anomalías congénitas con el uso extensivo de plaguicidas (Grijalba et al., 2018).

Otros problemas generados por el uso de los plaguicidas químicos sintéticos se da por la falta de conocimiento por parte de los agricultores sobre estos productos y su aplicación sin el equipo de protección personal o con un equipo inadecuado (Bateman et al., 2018).

Económicamente hablando, el uso indiscriminado de estas sustancias ocasiona un

gasto anual que va de 500 a 600 millones de dólares sin contar los gastos necesarios para remediar las afecciones generadas por su uso, lo que se traduce en un incremento en los costos (Grijalba et al., 2018).

2.3.6 Botánico

Desde hace cientos de años el ser humano ha hecho uso de diferentes extractos y aceites esenciales de plantas para combatir diferentes plagas, entre esas plantas podemos encontrar a barbasco (*Lonchocarpus* sp.), rotenona (*Derris* sp.), tabaco (*Nicotina tabacum*), sabadilla (*Schoenocaulon officinale*), piretro (*Tanacetum cinerariaefolium*), heléboro (*Veratum álbum*), *Atalantia monophylla*, *Couropita guianensis*, y *Azadirachta* solo por mencionar algunas especies (Ware y Whitaker, 2004). Las plantas sintetizan una serie de compuestos o metabolitos secundarios, los cuales son importantes para desarrollarse e interactuar con el medio, entre los que se encuentran alcaloides, terpenos, compuestos fenólicos y glucosinolatos. Estos compuestos se han utilizado ampliamente como agentes bactericidas, insecticidas, fungicidas, antioxidantes, anticancerígenas, cardiovasculares, cosméticas y alimentarias (Fierascu et al., 2020).

Para la obtención de los extractos que contienen a los metabolitos, se han estudiado diferentes técnicas de extracción utilizando una amplia gama de disolventes entre los cuales se encuentran el agua, metanol, acetona, cloroformo, éter etílico, éter de petróleo y hexano. Los metabolitos sintetizados, como ya se mencionó, pertenecen a una gran variedad de familias químicas por lo que la afinidad que estos muestran a los solventes estará ligada a la polaridad que cada uno de estos presenta. Por ejemplo, Paladino y Zuritz (2011) encontraron diferencia al utilizar acetona y agua en el proceso de extracción de compuestos fenólicos de semillas de la vid. Otro caso reportado es el de Mesa et al. (2015) quienes identificaron que los solventes con polaridad media y alta mostraban diferencia en la extracción de compuestos antioxidantes de *Ageratum conyzoides* en comparación de los disolventes con

polaridad baja.

Los principales metabolitos secundarios que han mostrado efectos insecticidas en contra de *Spodoptera* spp., son los de tipo alcaloide y terpenos (Ayil et al., 2018). Dentro de los efectos más comunes que presentan estos compuestos contra los insectos están los de tipo: insecticida, repelente, antialimentario, ovicida, supresor reproductivo, reductor de fertilidad y fecundidad, inhibidor del crecimiento entre otros. Debido al gran potencial que presentan estos compuestos contra los insectos, se ha considerado a esta alternativa de control una de las más efectivas, seguras y baratas (Alves et al., 2016; Zaynab et al., 2019).

2.4 Generalidades de *Heterotheca inuloides*

Heterotheca inuloides conocida popularmente como árnica mexicana, es una planta nativa de México, perteneciente a la familia Asteraceae (Semple, 2008). Las variedades de esta planta son: *H. inuloides* var. *Inuloides*, *H. inuloides* var. *rosei* y *H. inuloides* var. *viridis*, las cuales se pueden identificar por todo México, sin embargo, es más común encontrarlas en la zona centro del país. Dentro de la medicina tradicional mexicana, esta especie es muy utilizada para tratar problemas de la piel, reumas, contusiones, problemas estomacales e incluso trastornos como cáncer y diabetes, esto a partir de tisanas e infusiones de las partes aéreas de esta planta.

Se ha reportado que diferentes especies del género *Heterotheca* tienen actividad insecticida y acaricida contra el ácaro *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) (Rufinengo et al., 2002) y larvas de tercer estadio de *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) (Morimoto, 2019); de igual manera *H. inuloides* ha sido evaluada como una opción en la lucha contra plagas de maíz y frijol tales como el gorgojo de maíz *Sitophilus zeamais* (Coleoptera; Curculionidae) (Juárez-Flores et al., 2010).

Los principales metabolitos biosintetizados por *H. inuloides* están incluidos principalmente en los siguientes grupos estructurales: sesquiterpenoides de tipo cadinano, triterpenos, fitoesteroles, flavonoides y derivados de ácido benzóico, siendo el compuesto principal el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno (Delgado et al., 2001). Por todo lo anterior mencionado resulta de interés evaluar la actividad biológica de *H. inuloides* y su compuesto mayoritario contra *S. frugiperda*.

3. HIPOTESIS

- Los extractos acetónico y metanólico de las partes aéreas de *H. inuloides* presentan actividad insecticida en contra de *S. frugiperda* debido a la presencia del sesquiterpeno 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol, ya que este tipo de compuestos han demostrado tener actividad insecticida e insectostática.

4.OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la actividad insecticida de los extractos acetónico y metanólico de las partes aéreas de *H. inuloides* y del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno contra *Spodoptera frugiperda*.

Objetivos Específicos

- Evaluar la respuesta biológica de los extractos acetónico y metanólico de las partes aéreas de *H. inuloides* contra *S. frugiperda*.
- Identificar el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno de los extractos acetónico y metanólico de *H. inuloides*.
- Evaluar la respuesta insecticida e insectistática que el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno presenta contra *S. frugiperda*.

5.METODOLOGÍA

5.1 Sitio de estudio

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas, ubicado en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

5.2 Cría de *Spodoptera frugiperda* en condiciones de laboratorio

Las larvas de *S. frugiperda* fueron proporcionadas por el Laboratorio de Compuestos Naturales Insecticidas, donde son criadas a lo largo de todo su ciclo de vida. En su etapa adulta las mariposas se colocaron en bolsas de papel para que pudieran reproducirse y así colocar masillas de huevos en las paredes de esta. Posteriormente las masillas fueron recortadas y colocadas en recipientes plásticos de 500 mL juntos a trozos de dieta, la cual está basada en el trabajo de Quintana-López et al. (2016), cuya composición se muestra en el Cuadro 1. Todas las larvas eclosionadas fueron separadas cuando alcanzaron el segundo estadio larval, colocando a cada una en vasos PRIMO #0, donde fueron alimentadas con la dieta durante toda esta fase. Al llegar a la fase pupal, se tomaron aproximadamente 25 pupas y se colocaron en recipientes de 1 L hasta que emergieron nuevos adultos para ser colocados nuevamente en las bolsas. Para lograr un correcto desarrollo del insecto en su etapa larval, estas se resguardaron en cámaras bioclimáticas manteniendo temperaturas de 25 a 28 °C y un porcentaje de humedad del 70%. Los individuos que se seleccionaron para los bioensayos fueron larvas del segundo estadio, debido a que este es el estadio donde la larva empieza a tener mayor actividad sobre los cultivos.

Cuadro 1. Composición de la dieta

Ingrediente	Cantidad
Levadura liofilizada	20 g
Maíz molido	120 g
Frijol molido	60 g
Neomicina	0.6 g
Multivitamínico pulverizado	2.5 g
Ácido ascórbico	1.7 g
Metil 4-hidroxibenzoato	1.7 g
Formaldehído al 10%	2.5 mL
Agar	10 g
Agua	800 mL
Etanol 96°	17 mL

5.3 Obtención de los extractos acetónico y metanólico de *Heterotheca inuloides*

Se recolectaron 2 muestras de las partes aéreas (hojas y flores) de *H. inuloides* en la localidad de Atlixco, Puebla, México, lugar ubicado en las coordenadas geográficas: paralelos 18° 49` 30" y 18° 58` 30" de latitud norte y los meridianos 98° 18` 24" y 98° 33` 36" de longitud occidental. Las cantidades recolectadas fueron aproximadamente de 250 g en cada muestreo. El material vegetal recolectado fue autenticado por la M. en C. María Edelmira Linares-Mazari, el número de colecta registrado fue: E. Linares 2757 y Bye. Un espécimen se depositó en el herbario del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las muestras del material vegetal fueron trasladadas al departamento de productos naturales del instituto de química de la UNAM, donde fueron secadas a la sombra por 3 semanas y posteriormente fragmentadas.

Para la obtención de los extractos se empleó la técnica de maceración utilizada por Delgado et al., (2001), la cual consistió en colocar el material molido en 2 disolventes diferentes, acetona y metanol a temperatura ambiente. La relación entre cada uno de los disolventes y el material vegetal fue de 5:1, realizando la

maceración 3 veces consecutivas, una cada 24 h. El líquido recolectado de cada maceración se concentró a presión y posteriormente se evaporó hasta sequedad para descartar la presencia de solventes.

5.4 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática de los extractos acetónico y metanólico de *Heterotheca inuloides* contra *Spodoptera frugiperda*

Para realizar la evaluación de cada uno de los extractos se siguió la metodología presentada por Romo-Asunción et al. (2016), por lo que se adicionaron diferentes cantidades de cada uno de estos extractos, en la dieta con la que se alimenta al insecto, obteniendo primeramente dietas con concentraciones logarítmicas (0, 5, 50, 500 y 5000 ppm) que sirvieron como ensayos preliminares para obtener la ventana de respuesta biológica, después de estas pruebas preliminares, las concentraciones en los bioensayos finales fueron de 0, 500, 1000, 2000 y 5000 ppm para los extractos (acetónico y metanólico) de la muestra 1, mientras que para los de la muestra 2 (acetónico y metanólico) fueron de 0, 100, 400, 600 y 1000 ppm.

El procedimiento para preparar la dieta del insecto consistió en colocar todos los componentes en un recipiente de 2 L con excepción del ácido ascórbico, el formaldehído, el agar, el agua y el etanol. El ácido ascórbico fue disuelto con el etanol y se utilizó una cantidad mínima de agua destilada, para alcanzar la disolución total del ácido. Se agregó el agar a 400 mL de agua y se llevó hasta ebullición, después de alcanzado este punto se adicionó el resto de agua. Inmediatamente después de integrar el agar con el agua, esta se incorporó al recipiente con el resto de los componentes, integrando también el ácido disuelto en etanol y el formaldehído para posteriormente dejar enfriar por 30 min. De cada una de las dietas preparadas, se colocó 1 cm³ cúbico de estas en un vaso plástico marca PRIMO #0 junto a una larva de segundo estadio, realizando 20 réplicas por cada una de las concentraciones de los 4 extractos (Figura 3), posteriormente los

vasos con las larvas se cerraron con tapas marca PRIMO #0 y se guardaron en la cámara bioclimática con condiciones de: 27 ± 2 °C y $70 \pm 5\%$ humedad relativa; fotoperiodo luz – oscuridad de 14-10 horas.

Los bioensayos fueron revisados cada tercer día hasta que las larvas alcanzaron su último estadio larval, a partir de ese momento se revisó de manera diaria. Las variables evaluadas en los bioensayos finales fueron: mortalidad larval, mortalidad pupal, mortalidad acumulada y concentración letal media (CL₅₀).



Figura 4. Larvas en vasos plásticos

5.5 Identificación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno

Para identificar la presencia del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno en los extractos se utilizó la técnica de Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en inglés) mediante un equipo Thermo Fisher Scientific Ultimate 3000 con bomba binaria, detector de arreglo de diodos HL y una columna Agilent 927975-902, 4.6 x 550 mm, tamaño de partícula de 1.8 micras ZORBAX Eclipse XDB-C18. El volumen inyectado fue de 20 µL con un tiempo de corrida de 20 min.

5.6 Evaluación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol

Una muestra del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol fue donada por el Dr. José Luis Rodríguez Chávez, quien obtuvo este compuesto siguiendo la metodología descrita por Delgado et al., (2001). La metodología se basa en la técnica de cromatografía en columna utilizando sílica gel (SiO₂) en la fase estacionaria y una fase móvil con los disolventes n-hexano y acetato de etilo de polaridad creciente. La identificación del compuesto fue realizada mediante la comparación de los espectros de la muestra y del estándar, a este último se le asignaron todas las señales de protón y de carbono mediante los experimentos de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C.

Para la evaluación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenol se siguió el mismo procedimiento descrito para la evaluación de los extractos, cambiando únicamente las concentraciones, las cuales fueron en este caso de 0, 20, 40, 60 y 100 ppm.

5.7 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos de cada una de las evaluaciones, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con una prueba de Tukey a un nivel de confianza de 95 %, de esta manera se pudo identificar que concentraciones mostraron respuestas estadísticamente iguales o diferentes a su respectivo control, además de que se determinaron las concentraciones letales medias para cada extracto. Todo el análisis se realizó empleando el software Minitab 17.

6.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Evaluación de la actividad insecticida e insectistática de los extractos acetónico y metanólico de *Heterotheca inuloides* contra *Spodoptera frugiperda*

De acuerdo con lo mencionado en la metodología, en las evaluaciones preliminares realizadas a concentraciones logarítmicas (Cuadro 2 y Cuadro 3), se observó que ambos extractos acetónicos presentaron actividad insecticida a 500 y 5000 ppm, registrando mortalidades larvales de 50 y 100% para el extracto de la muestra 1 y de 40 y 95% para el extracto de la muestra 2 a las concentraciones mencionadas respectivamente. Las CL₅₀ larvales calculadas de los extractos de la muestra 1 y 2 fueron de 494.5 ppm y 2005.6 ppm respectivamente.

Cuadro 2. Bioensayo preliminar del extracto acetónico de la muestra 1 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval
5000	100±0 a
500	50±11.5 b
50	15±8.2 c
5	5±5 c
0	5±5 c
	p<0.0001
CL ₅₀	494.5 ppm (355.9 – 824.2 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 3. Bioensayo preliminar del extracto acetónico de la muestra 2 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval
5000	95±5 a
500	40±11.2 b
50	5±5 c
5	5±5 c
0	5±5 c
P<0.0001	
2005.6 ppm	
CL ₅₀	(1404.3 – 3005.2 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Posterior a los ensayos preliminares, se realizaron los ensayos finales a las concentraciones indicadas en el Cuadro 4 y Cuadro 5, para el extracto acetónico de la muestra 1 y de la muestra 2 respectivamente. En el caso del extracto acetónico de la muestra 1, se observó que los tratamientos de 5000, 2000 ppm y 1000 ppm mostraron respuestas estadísticamente diferentes con respecto al control en la mortalidad larval, registrando valores de 90, 70 y 85% respectivamente, algunas de las larvas muertas se muestran en la Figura 5. En la mortalidad pupal no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control debido a que en esta fase había muy pocos organismos sobrevivientes. En el análisis de la mortalidad acumulada, todos los tratamientos mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control, sobreviviendo el 35, 15, 15 y 0% de los organismos correspondientes a los tratamientos de 500, 1000, 2000 y 5000 ppm respectivamente. La CL₅₀ larval fue de 730.4 ppm y la CL₅₀ acumulada fue de 401.5 ppm.

En el bioensayo final con el extracto acetónico de la muestra 2, se observó que en

la mortalidad larval los tratamientos de 600 y 1000 ppm mostraron respuestas estadísticamente diferentes a la del control, observando mortalidades de 40 y 70% del total de larvas respectivamente. En la Figura 6 se observan algunas larvas muertas con este extracto. Para la mortalidad pupal, no se registró ninguna respuesta estadísticamente diferente al control debido a que en esta etapa había menos organismos que al inicio de la evaluación. En la mortalidad acumulada se observó que únicamente el tratamiento de 1000 ppm fue el que arrojó una respuesta estadísticamente diferente a la del control, sobreviviendo solo el 30% de los organismos iniciales. La CL₅₀ larval fue de 711.7 ppm y la CL₅₀ acumulada fue de 609.8 ppm.

Cuadro 4. Evaluación de la actividad insecticida del extracto acetónico de la muestra 1 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
5000	90±6.9 a	10± 6.9 a	100±0 a
2000	70±10.5 ab	15±8.2 a	85±8.2 ab
1000	85±8.2 a	0±0 a	85±8.2 ab
500	45±11.4 bc	20±9.2 a	65±10.9 b
0	15±8.2 c	5±5 a	20±9.2 c
	P<0.0001	P=0.241	P<0.0001
CL ₅₀	730.4 ppm (-327.1 – 1434.9 ppm)		401.5 ppm (-144.8 – 732.5 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.



Figura 5. Larvas muertas con el extracto acetónico de la muestra 1.

Cuadro 5. Actividad insecticida del extracto acetónico de la muestra 2 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
1000	70±10.5 a	0±0 a	70±10.5 a
600	40±11.2 a	5±5 a	45±11.4 ab
400	30±10.5 b	20±9.2 a	50±11.5 ab
100	15±8.2 b	5±5 a	20±9.2 b
0	15±8.2 b	0±0 a	15±8.2 b
	P<0.001	P=0.047	P<0.001
CL ₅₀	711.7 ppm (540.6 – 1024.7 ppm)		609.8 ppm (434.3 – 894.6 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.



Figura 6. Larvas muertas con el extracto acetónico de la muestra 2.

En los bioensayos preliminares con los extractos metanólicos de la muestra 1 y 2 (Cuadro 6 y Cuadro7) se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al control de 500 y 5000 ppm. Los valores de mortalidad fueron de 35 y 90% en el caso del extracto de la muestra 1 y de 40 y 90% para el de la muestra 2. Las CL₅₀ calculadas fueron de 2330.5 y 2257.6 ppm para los extractos de la muestra 1 y 2 respectivamente.

Cuadro 6. Bioensayo preliminar del extracto metanólico de la muestra 1 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval
5000	90±6.8 a
500	35±10.9 b
50	10±6.8 bc
5	5±5 c
0	5±5 c
P=0	
CL ₅₀	2330.5 ppm (1847.5 –2977.8 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones \pm error estándar de la media. $P < 0.05$ indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

Cuadro 7. Bioensayo preliminar del extracto metanólico de la muestra 2 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval
5000	90 \pm 6.8 a
500	40 \pm 11.2 b
50	10 \pm 6.8 c
5	5 \pm 5 c
0	5 \pm 5 c
P=0	
CL ₅₀	2257.6 ppm (1602.4 –3266 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones \pm error estándar de la media. $P < 0.05$ indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.

A partir de lo observado en los bioensayos preliminares, se realizaron los bioensayos finales con los extractos metanólicos a las concentraciones indicadas en el Cuadro 8 y Cuadro 9 para la muestra 1 y 2 respectivamente. El análisis del bioensayo final del extracto metanólico de la muestra 1, indicó que el tratamiento que mostró una respuesta estadísticamente diferente en la mortalidad larval fue el de 5000 ppm, llegando a fase pupal el 15% de las larvas. Algunas larvas muertas se aprecian en la Figura 7. Para la mortalidad pupal se observaron respuestas estadísticamente significativas a 1000 y 2000 ppm, con mortalidades de 35% para ambas. En la mortalidad acumulada se encontraron respuestas significativas a 1000, 2000 y 5000 ppm, sobreviviendo el 30, 25 y 15 % de los organismos respectivamente. La CL₅₀ larval de la muestra fue de 2302 ppm y la CL₅₀ acumulada fue de 1033.8 ppm.

En el bioensayo final con el extracto metanólico de la muestra 2, se observó que en la mortalidad larval hubo una respuesta estadísticamente diferente a 1000 ppm alcanzando la fase pupal el 40 % de las larvas. En la Figura 8 se aprecian alguna larvas muertas con este extracto. En el caso de la mortalidad pupal, ningún tratamiento mostro una respuesta estadísticamente diferente al control debido a la disminución en la cantidad de organismos iniciales. Por otra parte, en la mortalidad acumulada se observó que a 600 y 1000 ppm se obtuvieron respuestas estadísticamente diferente al control, sobreviviendo el 45 y 35% de organismos respectivamente. La CL₅₀ larval fue de 781.3 ppm y la CL₅₀ acumulada de 681.3 ppm.

Cuadro 8. Actividad insecticida del extracto metanólico de la muestra 1 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
5000	85±8.19 a	0±0 b	85±8.19 a
2000	40±11.2 b	35±10.9 a	75±9.93 ab
1000	35±10.9 b	35±10.9 a	70±10.9 ab
500	35±10.9 b	5±5 b	40±11.2 bc
0	10±6.88 b	5±5 b	15±8.19 c
	P<0.0001	P=0.001	P<0.0001
	2302 ppm		1033.8 ppm
CL ₅₀	(1596.4–3326.6 ppm)		(27.7–1811.1 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.



Figura 7. Larvas muertas con el extracto metanólico de la muestra 1.

Cuadro 9. Actividad insecticida del extracto metanólico de la muestra 2 de *Heterotheca inuloides*.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
1000	60±11.2 A	5.0 ± 5.0 A	65.0±10.9 A
600	45±11.4 AB	10±6.88 A	55±11.4 AB
400	30±10.5 AB	5.0±5.0 A	35±10.9 ABC
100	10.0±6.88 B	0±0A	10.0±6.88 BC
0	10±6.88 B	10±6.88A	20±9.18 C
	P<0.001	P=0.66	P<0.001
CL ₅₀	781.3 ppm (610.2–1123.8 ppm)		681.3 ppm (508.8–997.7 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.



Figura 8. Larvas muertas con el extracto metanólico de la muestra 2.

A partir de los resultados obtenidos se puede observar que los 4 extractos evaluados mostraron actividad insecticida, destacando los acetónicos, los cuales mostraron una mejor respuesta en contra de *S. frugiperda*, ya que en el caso del extracto de la muestra 1, el acetónico alcanzó un valor máximo de mortalidad acumulada de 100%, mientras que con el metanólico el valor máximo fue de 85%, esto a 5000 ppm en ambos casos. Para los extractos de la muestra 2, el valor máximo de mortalidad acumulada fue de 70% para el acetónico mientras que para el metanólico el valor máximo registrado fue de 65%, los valores son muy similares, sin embargo, existe una mejor respuesta contra el insecto por parte del extracto acetónico.

La diferencia entre las respuestas de los solventes se debe a que los metabolitos que le confieren la actividad insecticida a *H. inuloides* presentan una mayor afinidad a la acetona en comparación con el metanol en el proceso de extracción.

Diversos autores han reportado actividad biológica contra *S. frugiperda* a partir de extractos de plantas de la familia Asteracea, por ejemplo, Salinas-Sánchez et al. (2012), emplearon 3 extractos de *Tagetes erecta* (Asteracea), el primero fue de tipo hexanico, el segundo acetónico y el tercero etanólico registrando valores de 48, 60 y 72% a 500 ppm. En la presente investigación en el caso de la muestra 1, el extracto acetónico registro una mortalidad larval de 45% y el metanólico de 35% a

500 ppm, estos valores son cercanos a lo reportado con el extracto hexánico de *T. erecta*, sin embargo, se puede ver una mejor respuesta por parte de los extractos de esta planta. En comparación con los extractos de la muestra 2, los extractos de *T. erecta* siguen presentando una mejor respuesta en contra de las larvas, pues a 600 ppm los extractos acetónico y metanólico de *H. inuloides* no alcanzan los valores reportados con *T. erecta* a 500 ppm. En general ambas plantas presentan actividad en contra de *S. frugiperda*, aunque *H. inuloides* lo hace con una respuesta menor.

En 2016 Romo-Asunción et al., reportaron mortalidades larvales contra *S. frugiperda* de 52.5, 90, 95 y 100% a 500, 1000, 2000 y 5000 ppm de extracto hexánico de *Senecio salignus*, valores cercanos, aunque menores a los obtenidos en este estudio con los extractos de la muestra 1, siendo de 90, 70, 85 y 45% para el acetónico y de 85, 40, 35 y 35% para el metanólico, esto a 5000, 2000, 1000 y 500 ppm para ambos casos. En el caso de los extractos de la muestra 2, la diferencia es más notable, pues en la presente investigación a 1000 ppm se obtuvo una mortalidad larval de 70 y 60% para los extractos acetónico y metanólico respectivamente, mientras que a 1000 ppm del extracto hexánico de *S. salignus* se alcanzó una mortalidad de 90%. La actividad insecticida se puede observar en ambas plantas, sin embargo, esta es mejor con *S. salignus*.

Otro trabajo donde se empleó una planta de la familia Asteracea fue el de Da Silva et al. (2017), quienes reportaron una mortalidad larval del 35% usando el extracto etanólico de *Braccharis dracunculifolia* (Asteracea) a 200 ppm. En el presente trabajo las mortalidades de 35% o más se alcanzaron arriba de 500 ppm para cada uno de los extractos, lo que indica que la respuesta insecticida registrada por estos es menor comparada con la reportada por Da Silva et al.

Además de las investigaciones donde se ha reportado actividad insecticida contra *S. frugiperda* a partir del uso de Asteraceas, existen varios trabajos donde se ha

encontrado actividad insecticida en contra de otros artrópodos a partir de estas plantas. Un ejemplo es el trabajo de Rodríguez-Hernández y López-Pérez (2001), quienes reportaron que al aplicar polvo de raíz de *Senecio salignus* (Asteracea) al 1% (peso/peso) se obtuvo una mortalidad de 100% contra adultos de *Zabrotes subfasciatus*. Por otro lado, Nenaah et al. (2015), al impregnar papel con aceites esenciales de *Ageratum conyzoides* (Asteracea), *Achillea fragrantissima* (Asteracea) y *Tagetes minuta* (Asteracea) consiguieron CL₅₀ de 37.1, 66.3 y 123.2 ppm respectivamente contra adultos de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). Mediante el mismo método, pero con el aceite esencial de *Tagetes filifolia* (Asteracea), Rodríguez-Torres et al. (2021) reportaron una mortalidad de 50.4% a 500 ppm contra de adultos *Pagiocerus frontalis* (Coleoptera: Curculionidae). Los trabajos reportados y los encontrados con los extractos en esta investigación, reafirman el interés e importancia sobre las evaluaciones de actividad biológica a partir de plantas pertenecientes a la familia Asteracea.

6.2 Identificación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno

Para la identificación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno en los extractos, primeramente, se obtuvo un cromatograma de este compuesto (Figura 9), dando un pico de señal a los 14.5 min. En las Figura 10 y 11 se observan lo cromatogramas de los extractos acetónicos de las muestras 1 y 2 respectivamente, en los cuales se pueden observar picos de señales a los 14.5 min, indicando la presencia del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno en ellos. Por otra parte, las Figuras 12 y 13 muestran los cromatogramas de los extractos metanólicos de las muestras 1 y 2, donde también se pudo identificar la presencia del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno debido a los picos de señal a los 14.5 min.

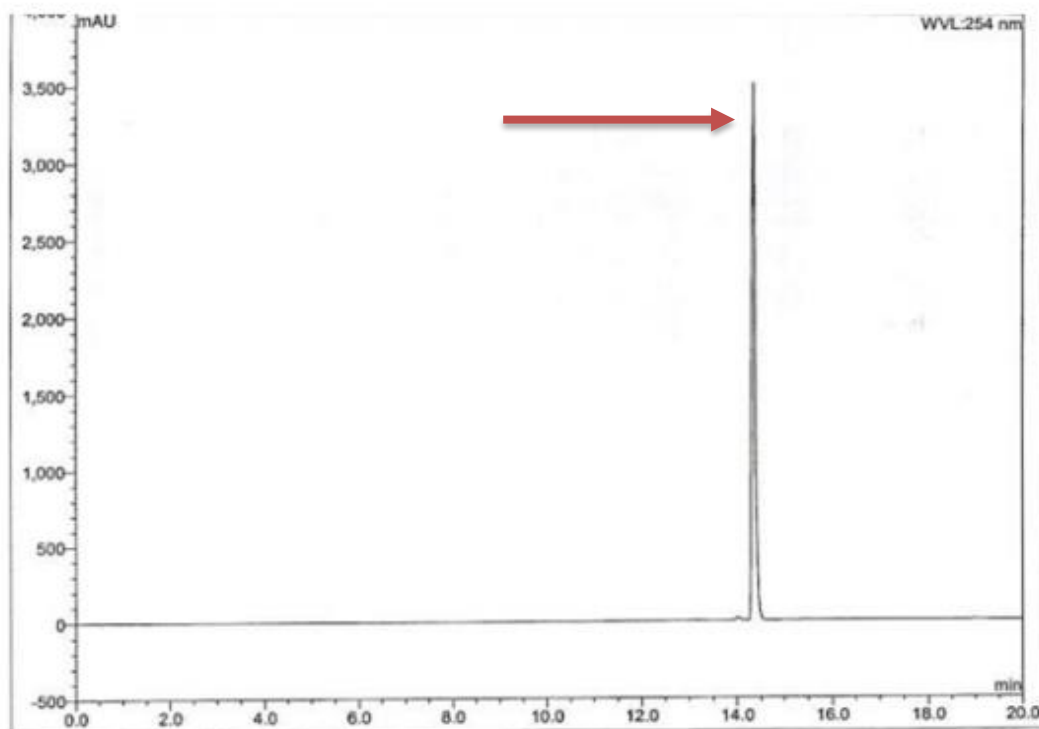


Figura 9. Cromatograma del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleño

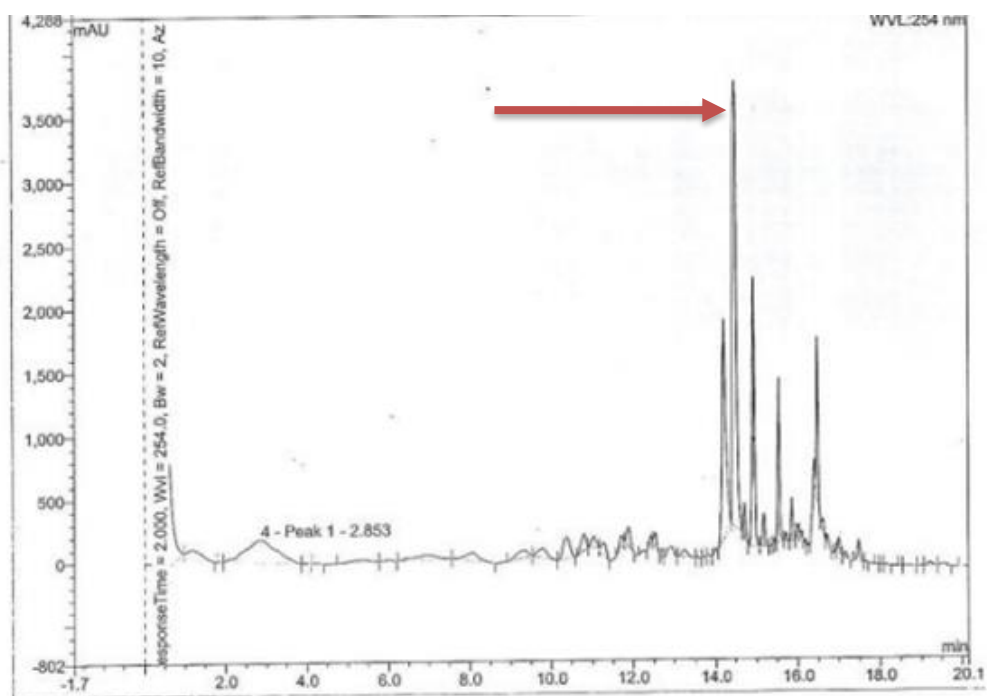


Figura 10. Cromatograma del extracto acetónico de la muestra 1.

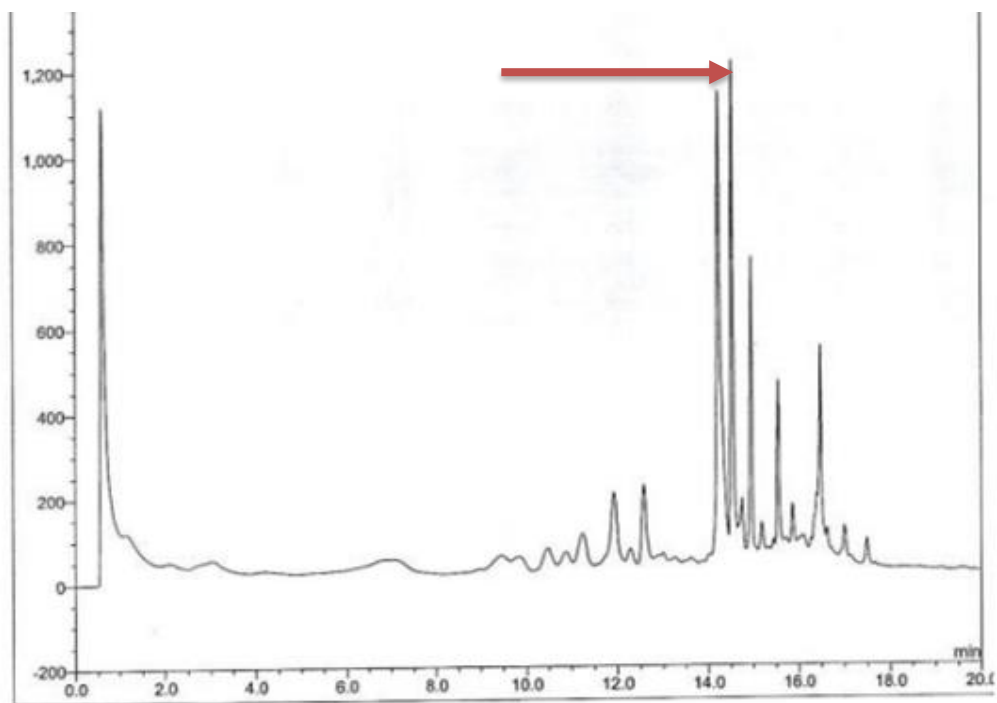


Figura 11. Cromatograma del extracto acetónico de la muestra 2.

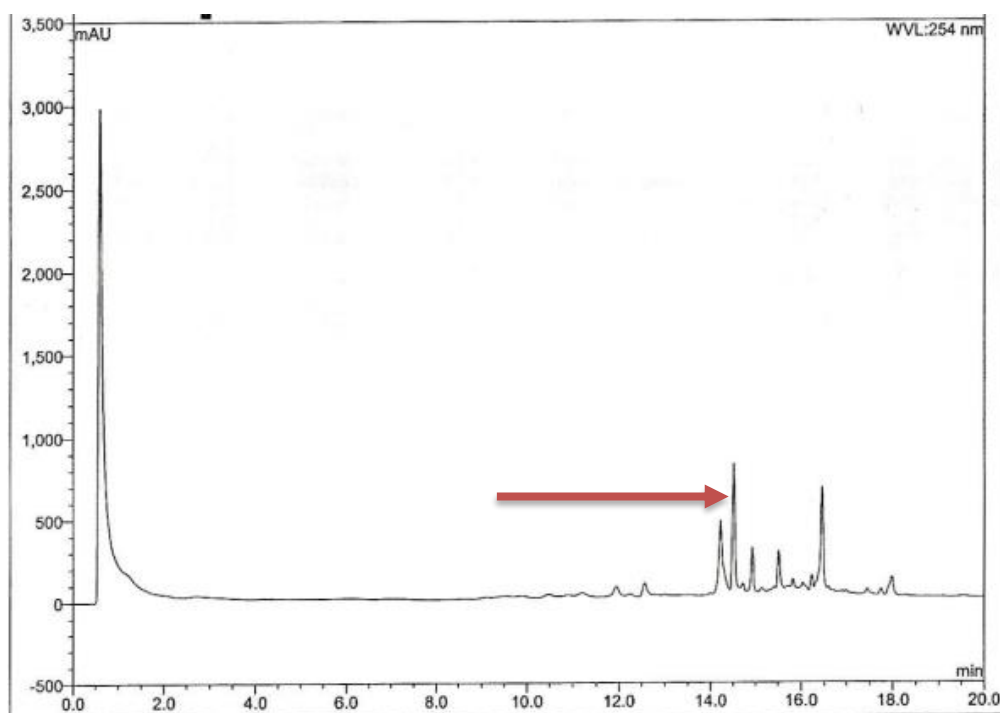


Figura 12. Cromatograma del extracto metanólico de la muestra 1.

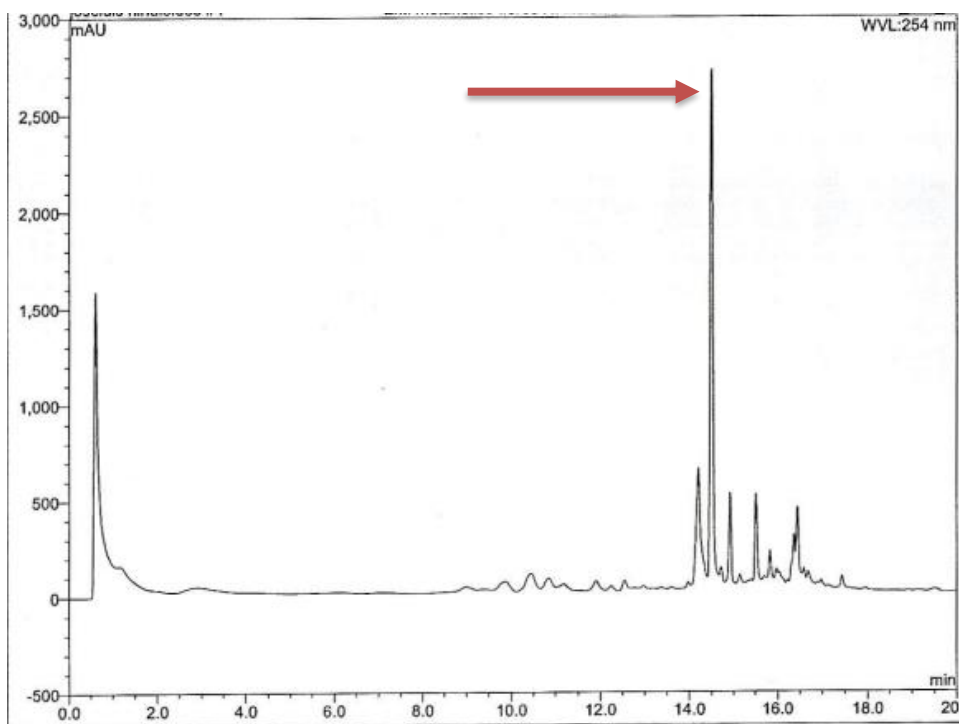


Figura 13. Cromatograma del extracto metanólico de la muestra 2.

6.3 Evaluación de la actividad insecticida del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenocntra *S. frugiperda*.

Los datos del bioensayo realizado con el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenocntra (Cuadro 10) indicaron que en la mortalidad larval los tratamientos que arrojaron una respuesta estadísticamente diferente al control fueron los de 40, 60 y 100 ppm, llegando a fase pupal solo el 40, 25 y 45 % de las larvas respectivamente. En la Figura 9 se muestran algunas larvas muertas con el compuesto. En el caso de la mortalidad pupal ningún tratamiento arrojó una respuesta estadísticamente diferente al control. Para la mortalidad acumulada se observó que todos los tratamientos arrojaron una respuesta estadísticamente diferente a la del control, sobreviviendo el 20, 25, 40 y 40 % de los individuos para 100, 60, 40 y 20 ppm respectivamente. La CL_{50} larval fue de 44.36 ppm y la CL_{50} acumulada de 29.41 ppm.

Cuadro 10. Actividad insecticida del compuesto 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenoleno.

Tratamiento (ppm)	% Mortalidad larval	% Mortalidad pupal	% Mortalidad acumulada
100	55±11.4 a	25± 9.93 a	80±9.18 a
60	75±9.93 a	00±00 b	75±9.93 a
40	60±11.2 a	00±00 b	60±11.2 a
20	50±11.5 ab	10±6.88 ab	60±11.2 a
0	10±6.88 b	5±5 ab	15±8.19 b
	P=0.001	P=0.018	P<0.0001
CL ₅₀	44.36 ppm (10.3-77.76 ppm)		29.41 ppm (5.09 – 45.89 ppm)

Cada valor es la media de 20 repeticiones ± error estándar de la media. P<0.05 indica diferencia significativa. Tratamientos con letras diferentes indican diferencia.



Figura 14. Larvas muertas con el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadalenoleno

Diversos estudios han reportados la actividad insecticida de diferentes compuestos sesquiterpenicos en contra de *S. frugiperda*. En el año de 2017 Sosa et al.,

encontraron actividad insecticida a partir de eudesmanes (compuestos de tipo sesquiterpenicos), los cuales fueron aislados de *Pluchea sagittalis* (Asteraceae), registrando CL₅₀ larval de 177800 ppm, valor que supera ampliamente a la CL₅₀ larval de 44.36 ppm obtenida en la presente investigación, lo que deja ver de manera clara que hay una mejor respuesta por parte del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno. Otro trabajo donde se usaron compuestos de tipo sesquiterpenico en contra de *S. frugiperda* fue el de Miranda et al. (2022), quienes a partir de las lactonas sesquiterpenicas: tagitinina A, tagitinina C y 1b-metoxidiversifolina registraron disminuciones en la duración de fase larval de 1.2, 1.88 y 1.29 d, todas estas a una concentración de 100 ppm, de esta manera se puede observar que el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno utilizado en esta investigación presento una mejor respuesta en comparación con las lactonas, ya que a la concentración (100 ppm) en que estas últimas provocaron disminuciones en la duración larval, el compuesto evaluado en este trabajo obtuvo una mortalidad larval de 55%. Por otro lado, Mesurado et al. (2021) evaluaron la actividad de varios grindelanos (compuestos diterpenicos) contra *S. frugiperda* y reportaron que uno alcanzó una mortalidad larval de 100% a 100 ppm, concentración que en la presente investigación alcanzó el valor de 55% lo que denota que hay una menor actividad insecticida por parte del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno.

7.CONCLUSIONES

Tanto los extractos metanólicos como los acetónicos mostraron actividad insecticida contra *S. frugiperda*.

Los extractos acetónicos arrojaron una respuesta insecticida mayor en contra del insecto debido a que la acetona presentó una mayor afinidad con los metabolitos en el proceso de extracción.

De los extractos acetónicos el que mostró una mayor actividad insecticida fue el de la muestra 1, registrando CL₅₀ larval y acumulada de 730.4 ppm y 401. 5 ppm respectivamente.

Se logró la identificación del 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno de los extractos acetónicos y metanólicos de *H. inuloides*.

El 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno presentó actividad insecticida en contra de *S. frugiperda*, registrando una CL₅₀ larval y acumulada de 44.36 y 29.41 ppm.

8.REFERENCIAS

- Agatz, A., Ashauer, R., Sweeney, P., & Brown, C. (2020). A knowledge-based approach to designing control strategies for agricultural pests. *Agricultural Systems*, 1, 183-190.
- Alves, D.S., Machado, A.R.T., Campos, V.A.C., Oliveira, D.F. & Carvalho, G.A. (2016). Selection of annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Econ. Entomol.* 109, 649–659.
- Angulo, J. (2000). Manejo del Gusano cogollero del maíz utilizando extractos de plantas (1ra Ed). CORPOICA, Colombia.
- Ayil, B., & Sánchez, L. (2018). Biological effects of natural products against *Spodoptera* spp. *Crop protection*, 1, 195-207.
- Bateman, M., Day, R., Luke, B., Edgington, S., Kuhlmann, U., & Cock, M. (2018) Assessment of potential biopesticide options for managing fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Africa. *Applied entomology*, 142, 805-819.
- Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pacheco, N. O. P., Sandoval, J. H. Á., y Aristizabal, C. I. G. (2019). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*. 15(1), 31-40.
- Bergvinson, J., & Kumar, H. (1997). Cría masiva de insectos en el laboratorio de entomología del CIMMYT (*Diatrea grandiosella*, SWCB; *Diatrea saccharalis*, SBC; *Spodoptera frugiperda*, FAW y *Helicoverpa zea*, CEW). *Maize Entomology Appendix 7*, 1, 1-20.
- Capinera, J. (2000). Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). Institute of Food and Agricultural Sciences, [En línea]. Disponible en <http://www.fao.org/docrep>. (consultado enero de 2021). 1, 1-6.
- Capinera, J. L. (2002). Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Insecta: Lepidoptera: Noctuidae. EDIS. [En línea]. Disponible en <http://www.fao.org/docrep>. (consultado mayo de 2021). 1(7).

Capinera, J. L. 1999. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). University of Florida IFAS. 6 pp. [En línea]. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/W3587E/w3587e03.htm> (consultado marzo de 2021).

Castélum, R., López, M., & Godoy, T. (2021). Manejo y control de plagas en maíz. VI Jornada del cultivo del maíz, 4, 25-46.

Cazmuz, A., Juárez, M., Socías, M., Murúa, G., Prieto, S., Medina, S., Willink, E., & Gastaminza, G. (2010). Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 69, 209-231.

CEDECO. (2004). La salud en la finca orgánica y su relación con la nutrición de las plantas: Control y prevención de insectos y enfermedades. Serie Agricultura Orgánica, 11, 59.

Clavijo, S., & Pérez, G. (2000). Protección y Sanidad Vegetal. Caracas: Editorial Fundación Polar, 1, 345-360

Cortez, M., & Pérez, M. (2014). Recomendaciones para el manejo integrado de plagas en maíz, con énfasis en el gusano cogollero. Panorama Agropecuario, 1, 1-34.

Fierascu, C., Catalina, I., Dinu, C., Fierascu, I., & Paunescu, A. (2020). The application of essential oils as a next-generation of pesticides: recent developments and future perspectives. PubMed, 75, 183-204.

FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura). (2016). Panorama agroalimentario: Maíz, 1, 25.

G, Delgado., Olivares, M., M, Chávez., M, Apan, E, Linares, E., R, Bye, & F, Espinosa-García. (2001). Antiinflammatory constituents from *Heterotheca inuloides*. Journal of natural products. 64., 861-4.

Grijalba, E., Espinel, C., Cuartas, P., Chaparro, M., & Villamizar, L. (2018). *Metarhizium rileyi* biopesticide to control *Spodoptera frugiperda*: Stability and insecticidal activity under glasshouse conditions. Fungal Biology, 122, 1069- 1076.

Hardke, J.T., Lorenz, G.M., Leonard, R. (2015). Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) ecology in Southeastern cotton. Journal of Integrated Pest

Management, 6(1): 10.

Jiménez-Martínez, E. (2009). Método de control de plagas. Managua, Universidad Agraria, 1, 172.

Juárez-Flores, B.I., Y. Jasso-Pineda, J.R. Aguirre-Rivera, and I. Jasso-Pineda. (2010). Efecto de polvos de asteráceas sobre el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motsch). Polibotánica 30: 123-135.

Machado, E.P., Rodrigues, J.D., Führ, F.M., Zago, S.L., Marques, L.H., Santos, A.C., Nowatzki, T., Dahmer, M.L., Omoto, C., Bernardi & O. (2020). Cross-crop resistance of *Spodoptera frugiperda* selected on Bt maize to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac and Cry1F proteins in Brazil. Sci. Rep. 10, 10080.

Mesa, A., Zapata, S., Arana, L., Zapata, I., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 14, 1-10.

Mesurado, M., Chalup, A., Ortiz, J., Puchol, J., Feresin, G., Bardon, A. & Cartagena, E. (2021). Activity of grindelanes against important maize pest *Spodoptera frugiperda* and their selectivity of action on non-target environmental bacteria. Entomologia Experimentalis et Applicata. 169. 10.

Miranda, M., Matos, A., Volante, A., Cunha, G. & Gualtieri, S. (2022). Insecticidal activity from leaves and sesquiterpene lactones of *Tithonia diversifolia* (Helms.) A. Gray (Asteraceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). South African Journal of Botany. 144. 377-379.

Morimoto, M. (2019). Chemical defense against insects in *Heterotheca subaxillaris* and three Orobanchaceae species using exudates from trichomes. Pest. Manag. Sci 75: 2474-2481.

Murúa, M. G., Molina-Ochoa, J. & Coviella, C. (2006). Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in Northwestern Argentina. Fla. Entomol. 89 (2): 175-182.

Paladino, S., & Zuritz, C. (2011). Extracto de semillas de vid (*Vitis vinifera* L.) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de

extracción Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, 43, 187-199.

Pérez, N. (2010). Alternativas al control químico de plagas. REDESMA, 4, 2-3.

Pérez, R. (2004). Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae). Acta Zoológica Mexicana, 1, 141-152.

Peteira, B., González, I., Arias, Y., Fernández, T.A., Miranda, I. & Martínez, B. (2011). Biochemical characterization of six isolates of *Beauveria bassiana* (balsamo) Vuillemin. Rev. Protección Veg. 26, 16–22.

Quintana-López, C., Ramos-Lopez, M., Brito, Rodolfo., Bah, M., Rico-Rodríguez, M. y Pacheco-Aguilar, Juan. (2016). actividad insecticida e insectistática de *Senna crotalarioides* (Irwin y Barneby, 1979) (Fabaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Entomología Mexicana. 3. 171-176.

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

Rodríguez, J., Egas, V., Linares, E., Bye, R., Hernandez, T., Espinoza, F., & G. Delgado, G. (2017). Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. Journal of Ethnopharmacology, 195, 39-63.

Rogg, H. (2000). Manejo Integrado y Control Biológico de Plagas y Enfermedades, Una Guía Teórica. Quito: Editorial Proexant, 1, 53-54.

Rufinengo, S., Eguaras, M., Cora, D., Rodríguez, E., Bedascarrasbure, E., Bailac, P. and Ponzi, M. (2002). Biological activity of *Heterotheca latifolia* essential oil against *Varroa jacobsoni*. J. Essent. Oil Res. 148 (2): 462–464.

SAGARPA. (2017). Maíz grano blanco y amarillo mexicano. Planeación agrícola nacional 2017-2030, 1, 22.

Schroeder, L., Mar, T.B., Haynes, J.R., Wang, R., Wempe, L. & Goodin, M.M. (2019). Host range and population survey of *Spodoptera frugiperda* rhabdovirus. J. Virol. 93, 1–30.

- Semple J. (2008). Cytotaxonomy and cytogeography of the goldenaster genus *Heterotheca* (Asteraceae: Astereae). *Botany*, 86(8), 886-900.
- SIAP (Servicio de información agroalimentaria y pesquera). (2014). Maíz México, 1,1-9.
- Sosa, A., Costa, M., Salvatore, A., Bardón, A., Borkosky, S. & Vera, N. (2017). Insecticidal effects of eudesmanes from *Pluchea sagittalis* (Asteraceae) on *Spodoptera frugiperda* and *Ceratitis capitata*. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*. 2. 361-369.
- Tropicos. (2019). *Zea mays*. The Tropicos database links. Consultado junio 10 2021. Disponible en: <https://www.tropicos.org/name/25510055>
- Visconti, V., Eychenne, M. & Darboux, I. (2019). Modulation of antiviral immunity by the ichnovirus HdIV in *Spodoptera frugiperda*. *Mol. Immunol.* 108, 89–101.
- Ware, W., & Whitaker, M. (2004). *An introduction to insecticides* (4th edition).
- Yañez C. (2008). Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras. INIAP, 1, 1-20.
- Zaghloul, H.A.H., Hice, R., Arensbarger, P. & Federici, B.A. (2017). Transcriptome analysis of the *Spodoptera frugiperda* ascovirus in vivo provides insights into how its apoptosis inhibitors and caspase promote the increased synthesis of viral vesicles and virion progeny. *J. Virol.*, 91, 1–21.
- Zaynab, M., Fatima, M., Sharif, Y., Zafar, M.H., Ali, H. & Khan, K.A. (2019). Role of primary metabolites in plant defense against pathogens. *Microb. Pathog.* 137, 1–4.