



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tournefortia hirsutissima* SOBRE
LARVAS DE *Spodoptera frugiperda***

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

AZUCENA LUCENA CUEVAS

DIRECTOR

M en B. LAURA PATRICIA LINA GARCIA

CUERNAVACA, MORELOS

FEBRERO, 2020

ÍNDICE

	Página
Índice de abreviaturas	i
Índice de figuras	ii
Índice de cuadros	iii
Resumen	1
Introducción	2
Antecedentes	3
Justificación	15
Hipótesis	16
Objetivos	16
Materiales y métodos	17
Resultados	23
Discusión	30
Conclusiones	34
Literatura citada	36

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

°C: grados Celsius

µg: microgramos

µl: microlitros

Cl₅₀: concentración letal media

cm²: centímetro cuadrado

Cs₅₀: concentración subletal media

DL₅₀: dosis letal media

g: gramos

mbar: milibares

mg: miligramos

mL: mililitros

ppm: partes por millón

rpm: revolución por minuto

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
Figura 1. <i>Tournefortia hirsutissima</i>	4
Figura 2. Larva de <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
Figura 3. Ciclo de vida de <i>S. frugiperda</i>	10
Figura 4. Distribución de <i>S. frugiperda</i> en América Latina	11
Figura 5-6. Área de colecta de <i>T. hirsutissima</i>	18
Figura 7. Bomba de vacío. Filtración del extracto crudo	19
Figura 8. Rota-evaporador. Concentración de extracto crudo	19
Figura 9. Colocación de dieta merídica en cajas Cell Wells	20
Figura 10. Aplicación de extracto sobre la dieta	20
Figura 11. Placas selladas	21
Figura 12. Extracto a diferentes concentraciones sobre la dieta	21
Figura 13. Gráfica mortalidad de larvas	24
Figura 14. Curva de mortalidad con respecto a diferentes concentraciones	25
Figura 15. Gráfica de viabilidad pupal	26
Figura 16. Gráfica de viabilidad de adultos	27
Figura 17. Larvas de <i>S. frugiperda</i>	29
Figura 18. Pupas deformes de <i>S. frugiperda</i>	29
Figura 19. Adultos de <i>S. frugiperda</i>	29

ÍNDICE DE CUADROS	Página
Cuadro 1. Condiciones de trabajo en el rota-evaporador para la concentración de los extractos a un baño maría de 60°C y 100 rpm	19
Cuadro 2. Rendimiento de los extractos por cada disolvente	23
Cuadro 3. Resultados obtenidos del análisis Probit	25
Cuadro 4. Efecto del extracto hexánico de <i>T. hirsutissima</i> sobre el peso larval de <i>S. frugiperda</i>	28
Cuadro 5. Efecto del extracto hexánico de <i>T. hirsutissima</i> sobre el peso en pupas de <i>S. frugiperda</i>	28
ÍNDICE DE APÉNDICES	Página
Preparación de la dieta de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Mihn ,1984; Lina, 1996)	35

Resumen

El uso indiscriminado de productos químicos sintéticos para el control de insectos plaga ha traído graves problemas al ambiente y a la salud humana, de acuerdo con esto se buscan otras alternativas viables para el control de plagas como lo son el control mecánico, físico, genético y nuevamente se han visto como una buena alternativa el uso de insecticidas a base de extractos vegetales, ya que son fáciles de adquirir y no representan riesgo para las personas ni para el ambiente.

Spodoptera frugiperda, conocido comúnmente como “gusano cogollero”, es considerado el insecto plaga más importante en Latinoamérica y a nivel mundial ya que durante su estado larval afecta principalmente cultivos de maíz mermando la producción en México hasta un 50%. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad biológica de los extractos de hojas de *Tournefortia hirsutissima* obtenidos con diferentes disolventes orgánicos (hexano, diclorometano, metanol y agua) sobre larvas neonatas de *S. frugiperda*.

Los resultados del presente estudio mostraron que al alimentarse al insecto con dieta meridica contaminada superficialmente con los tratamientos, el extracto hexánico de hojas de *T. hirsutissima* mostró diferencias significativas en comparación con los demás tratamientos, alcanzando una mortalidad máxima del 90.1% con la concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, este efecto fue mayor conforme se daba el aumento de las concentraciones. En cuanto al peso de larvas y pupas sobrevivientes a concentraciones de 100, 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ no hubo diferencias estadísticamente significativas respecto al control, sin embargo, a concentraciones de 650, 500, 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ las pupas presentaron malformaciones, estos resultados nos muestran que el tratamiento hexánico en concentraciones altas posee actividad insecticida e insectistática, en cuanto a la CL_{50} obtenido en el análisis Probit en el software Polo Plus fue de 76.070 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

1. Introducción

Uno de los problemas más comunes en la agricultura son los insectos plaga que llegan a atacar grandes extensiones de cultivo, trayendo consigo una baja productividad en las cosechas y por ende pérdidas económicas, debido a esto los agricultores se ven obligados a combatirlos, en la mayoría de los casos utilizando productos sintéticos que, por su bajo costo y en un principio su alta efectividad en el control de plagas, han tenido un crecimiento muy importante en su uso; sin embargo, el uso constante de estos productos trae consigo múltiples daños como son la contaminación del suelo, daños a la salud humana y animal, resistencia de plagas, acumulación de residuos tóxicos en alimentos, entre otros (Montesino *et al.*, 2009). Ante estas desventajas, el uso de insecticidas con base en extractos botánicos ha resultado ser una buena alternativa para el control de plagas, ya que resultan ser eficientes, fáciles de adquirir y son amigables con el ambiente (Negrete y Morales, 2003). Históricamente se han utilizado plantas y productos de origen vegetal como alternativa para el control de plagas, esto se debe a que los metabolitos secundarios de algunas especies han resultado tener una alta actividad biológica sobre éstas (Clemente *et al.*, 2003; Isman-Murray, 2008).

Una de las plagas consideradas importantes por el daño que ocasiona a los cultivos, principalmente de maíz, es *Spodoptera frugiperda* conocido comúnmente como “gusano cogollero”, su distribución abarca toda Latinoamérica, es una especie polífaga que perfora el cogollo de la planta causando poca productividad de maíz, lo que origina hasta el 50% de pérdida de producción en México (Blanco *et al.*, 2014). Para contribuir a su control, se pretende evaluar los extractos crudos de *Tournefortia hirsutissima*, esta especie pertenece a la familia Boraginaceae y en campo no parece tener insectos fitófagos asociados de manera importante (comunicación personal), además ha mostrado tener propiedades farmacológicas y compuestos químicos presentes en otras especies vegetales, a los que se les ha atribuido propiedades insecticidas e insectistáticas y han tenido resultados positivos para el control de algunas especies de insectos plagas, por lo tanto vale la pena estudiarla con el fin de determinar si cuenta con propiedades insecticidas, ya que el estudio sobre estas propiedades puede traer consigo dos líneas, como es la agricultura de subsistencia

y el descubrimiento de moléculas con propiedades insecticidas que tengan la capacidad de crear nuevas familias de insecticidas y sintetizarlas en laboratorio (Silva *et al.*, 2002). Por lo tanto, en este trabajo proponemos evaluar extractos de *T. hirsutissima* con la finalidad de saber si ésta presenta actividad biológica sobre *S. frugiperda*

2. Antecedentes

2.1 Extractos vegetales

Las plantas son un grupo de organismos que, al permanecer anclados por su raíz al suelo, se ven imposibilitados de huir ante la presencia de un evento estresante, por lo que, como respuesta a sus diversos ambientes, han desarrollado una serie de mecanismos o estrategias que les permiten responder a los factores adversos. Una de estas estrategias ha sido la respuesta química, gracias a la gran plasticidad de vías metabólicas que les permiten sintetizar una enorme variedad de compuestos con diferentes actividades biológicas que son de interés para el ser humano por la utilidad que pueden darle, una de ellas es la capacidad que tienen algunos compuestos para provocar respuestas adversas en los insectos, lo cual ha sido aprovechado para el control de plagas (Alonso-Amelot, 2003; Miresmaill e Isman, 2013).

Desde hace muchos años, estas propiedades insecticidas se conocen en moléculas como la rotenona (*Derris elliptica*), el piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) y la azadiractina (*Azadirachta indica*) que han sido aprovechados en la agricultura (Silva *et al.*, 2002; Montesino *et al.*, 2009; Pérez, 2012). Varias familias de plantas se han estudiado por poseer dichas actividades, entre ellas de manera decreciente están Meliaceae, Euphorbiaceae, Asteraceae, Labiatae, Fabaceae, Solanaceae (Isman-Murray 2006; Villavicencio-Nieto, 2010 y García-Mateos *et al.*, 2004). Es importante buscar nuevas fuentes para ampliar el conocimiento de especies vegetales que presenten actividades biológicas sobre insectos plaga ya que, de las 383,671 plantas vasculares registradas mundialmente (Ulloa *et al.*, 2017), sólo se conocen poco más de 2000 plantas con propiedades insecticidas (Montesino *et al.*, 2009), lo que significa que aún hay mucho por explorar y descubrir.

2.2 *Tournefortia hirsutissima* (Boraginaceae)

La familia Boraginaceae está distribuida en todo el mundo, está conformada por más de 100 géneros y alrededor de 2000 especies distribuidas en regiones subtropicales y templadas, algunas de importancia económica desde el punto de vista medicinal (diuréticas, desinfectantes, hemostáticas, entre otras), ornamental y alimenticio. A esta familia pertenece *Tournefortia hirsutissima* (sinonimia: *Messerschmidia hirsutissima* (L.) Roem. & Schult., *Messerschmidia chrysantha* Mart. & Gal.) (Figura. 1) (Rzedowski y Rzedowski, 2005).

Taxonomía

Filo: Tracheophyta

Subfilo: Angiospermae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Boraginales

Familia: Boraginaceae

Género: *Tournefortia*

Especie: *Tournefortia hirsutissima* L.



Fig.1. Imagen de la planta
Tournefortia hirsutissima

T. hirsutissima es conocida comúnmente como Tlalachinol, Tlachichinoa, lagrima de San Pedro, hierba rasposa, tlachichinaue, tlachichinole y cáncer negro, es una planta arbustiva con hojas simples alternas, con asperezas que se aprecian al tacto; tallo y hojas son pubescentes pudiendo causar irritación a la piel, los pelos pueden medir dos milímetros; presenta una inflorescencia compuesta, sus flores tienen una coloración blanca o amarilla-verdosa y sus frutos son bayas de color blanco (Campos-Villanueva *et al.*, 2004; Arrazola-Guendulay, 2018).

Las ramas se desarrollan alargándose, llegando a convertirse en plantas trepadoras, comúnmente arbustos de tres metros, pero se ha reportado que puede alcanzar los cinco metros de altura. Es nativa del centro y sur de México, América central y

Sudamérica, aunque también crece en el estado de Florida (USA) (Richardson y King, 2009). Este género está presente desde el mioceno en el istmo de Tehuantepec (Rzedowski, 1994), crece formando parte de la selva y la vegetación derivada de ésta (Monroy y Castillo, 2007).

Los compuestos que han desarrollado las plantas de forma constitutiva o inducible tienen diferentes funciones en ellas, algunos de esos compuestos pueden formar parte de sus mecanismos de defensa para reducir el ataque mecánico, de microorganismos patógenos y herbívoros o para responder a los factores físicos y químicos del ambiente, para la atracción de polinizadores o la comunicación intra e interespecífica (Isman-Murray, 2006), pero el hombre les ha dado diferentes aplicaciones.

En México esta especie es utilizada con fines curativos como las rozaduras de bebés, cicatrizante, para la inflamación del riñón y diabetes (Andrade-Cetto *et al.*, 2007; Andrade-Cetto *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 2017). En Morelos, las hojas se usan para el lavado de heridas, refrescar el estómago y curar las rozaduras, la diarrea por calor y la inflamación del riñón. El té de la planta completa se usa para curar infecciones; las hojas si se refriegan en agua y se dejan reposando 75 minutos, se usan para bañar a los niños pequeños para matarles el “chincual” (salpullido en los muslos y alrededor del ano que afecta principalmente a niños recién nacidos) (Monroy y Castillo, 2007).

El estudio realizado por Andrade-Cetto *et al.* (2015), mostró que los extractos acuosos y butanólicos del tallo de *T. hirsutissima* tienen un efecto hipoglucémico en ratas (n-STZ), reduciendo significativamente los niveles de glucosa en plasma a partir de las 3 horas. Además, posee compuestos como γ -sitosterol y ácido hexadecanóico que le dan la propiedad de acelerar la curación de una herida mediante la inducción de la producción de queratocitos en la piel, reduciendo así los niveles de estrés oxidativo; también se ha observado que posee un efecto antibiótico, ya que inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (Rivera *et al.*, 2017) y tiene actividad moderada sobre el hongo *Trichophyton mentagrophytes* (Gutiérrez *et al.*, 1996). Adler (2001) hace la revisión de estudios de varias especies vegetales, entre

las cuales se encuentra *T. hirsutissima*, y se menciona la presencia de compuestos fenólicos y alcaloides, aunque no muestran actividad disuasiva sobre hormigas sp.

Otros estudios reportan su aplicación en la elaboración de materiales biomédicos híbridos (parte orgánica que puede ser de origen vegetal, más zeolitas) para la cicatrización de las ulceraciones del pie diabético; la cromatografía de gases y espectrometría de masas mostraron que el extracto etanólico presenta 29 compuestos como son el 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol (14.92%), ácido 1,2-benzenodicarboxílico, mono(2-etilhexil) ester (21%), y γ -sitosterol (16.42%) entre los componentes mayoritarios, seguidos por el fenol 2,2'-metilenebis(4.53%), ácido hexadecanóico, etil ester (4.77%), 1-heptatriacotanol (5.0%) y ácido (E)-9-octadecenóico etil ester (4.11%) (Hernández *et al.*, 2016).

Con base en esto, es importante evaluar la planta para averiguar si cuenta con algún efecto insecticida, ya que además de que es utilizada en el pueblo mexicano para diversas curaciones, se ha observado en campo que no es atacada significativamente por insectos herbívoros (comunicación personal), por lo que es de interés evaluar si presenta actividad biológica sobre una especie de insecto plaga de interés.

2.3 Gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*

En el sentido antropogénico, una plaga se define como cualquier especie que perjudica al hombre, su propiedad o al medio ambiente. Muchas de las plagas agrícolas están conformadas principalmente por grupos de artrópodos como ácaros e insectos que se alimentan de las plantas, ocasionando una disminución en la producción del cultivo, así como también reducen el valor de la cosecha e incrementan los costos de producción. Una de las plagas importantes a nivel mundial es *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) que ataca cultivos de gran importancia como el maíz, pero se sabe que puede alimentarse de hasta 186 especies hospederas, la mayoría de la familia Poaceae. La importancia del maíz se basa en que es un cultivo de temporal y de riego porque forma parte de la dieta básica del mexicano y porque este cultivo representa una fuente importante de productos lignocelulósicos para la

obtención de biocombustibles, material de construcción e insumos biodegradables (Carpita y McCann, 2008; Fernández, 2002; Casmuz *et al.*, 2010).

Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), comúnmente llamado gusano cogollero del maíz, gusano trozador, gusano tierrero, gusano vainero, gusano pelón, lagarta cogollera (Figura 2), es una plaga que ocasiona daños en varios cultivos, principalmente en su estado larval, actuando como trozadores o tierreros. También se le conoce con el nombre de “oruga militar tardía” ya que, cuando escasea el alimento, las larvas se desplazan en grandes grupos “como un regimiento”. Es una de las principales plagas del maíz en diferentes países de la región neotropical, atacando el cultivo en densidades variables. Esta especie ataca principalmente el “cogollo” de las plántulas (lugar donde se encuentra el meristemo apical) y se alimenta de las hojas en formación, perforándolas severamente, el daño que producen es muy notorio debido a la observación de hojas rasgadas y con abundantes excrementos (Morón y Terrón, 1988; Willink *et al.*, 1993; Casmuz *et al.*, 2010)



Fig. 2. Larva de *Spodoptera frugiperda*

El gusano cogollero se encuentra taxonómicamente dentro de la familia Noctuidae y pertenece al orden Lepidóptera:

Phylum: Arthropoda

Subphylum: Mandibulata

Clase: Insecta

Subclase: Pterygota

Orden: Lepidoptera

Suborden: Frenatae

Superfamilia: Noctuoidea

Familia: Noctuidae

Tribu: Predenirii

Género: *Spodoptera*

Especie: *S. frugiperda* (J. E. Smith)

Los adultos son palomillas que llegan a medir aproximadamente de 30 a 35 mm de envergadura, presentan dimorfismo sexual (Lezama, 1993). Las hembras presentan una coloración grisácea y oscura, con diseños menos llamativos que el macho; éste presenta una coloración pardo claro, con marcas oscuras y líneas irregulares pálidas, sus alas anteriores son café oscuro y grisáceas con una mancha blancuzca en el área interior, por el contrario, la hembra no presenta esta mancha. Ambos presentan una coloración blanca en sus alas posteriores. Cuando se encuentran en reposo bajan sus alas sobre su cuerpo dando una apariencia de un ángulo (Nieto, 1983; Morón y Terrón, 1988).

Las hembras durante su vida fértil producen entre 1500 y 3600 huevecillos (Borbolla, 1981; Capinera, 1999), poniéndolos en grupos de 100 hasta 200 huevos por ovoposición. Los huevecillos son depositados sobre el haz y envés de las hojas y por lo general están cubiertos de segregaciones del cuerpo de la hembra, esto es con el fin de protegerlos contra algunos agentes bióticos y abióticos; son hemisféricos de 0.5 mm de diámetro aproximadamente, cuando son recién depositados su coloración es verde brillante, cambiando de color a tonos de café conforme transcurren los días y antes de la eclosión de las larvas toman un color gris claro pasando a negro (Lina,

1996). Cuando la temperatura oscila alrededor de $> 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ las larvas emergen muy rápido del huevo, ya que solo tiene de 2 a 3 días para hacerlo, en esta etapa de desarrollo, el gusano cogollero pasa por 6 o 7 estadios en los cuales los dos primeros son de suma importancia para tomar medidas para su control (Ruiz *et al.*, 2013).

Las larvas neonatas viven agrupadas las primeras horas y después se separan, esto es debido a que tienen hábitos caníbales, quedando generalmente una larva por planta de maíz (Borbolla, 1981). Tienen una medida promedio de 1.5 mm de largo, presentan una coloración aperlada, la cabeza es inversamente proporcional al cuerpo y las setas (vellosidades) que presentan son muy visibles en todo el cuerpo (Guzmán *et al.*, 2016). A medida que las larvas van cambiando de estadios su coloración cambia de un color verdoso a grisáceo (Ruiz *et al.*, 2013). Una de las características principales es que presentan una banda media longitudinal de color café oscuro en la parte dorsal y un par de franjas laterales de color café más claro a ambos lados de la anterior (Figura 2); a partir del cuarto estado larval (L4) se hace más notoria una “Y” invertida o sutura epicraneal de la cabeza (Ruiz *et al.*, 2013; Guzmán *et al.*, 2016).

El estado de pupa se desarrolla en el suelo, cuando la larva esta lista para pupar ésta se sepulta cerca de 2,5 cm bajo la tierra y forma una galería de aproximadamente 7 cm de largo, una vez que realiza esto, la larva forma una cámara pupal, después acorta sus segmentos mudando por última vez para convertirse en pupa y después de varios días emerger como adulto (Capinera, 1999) (Figura 3). La pupa es muy característica de la familia Noctuidae, es tipo obtecta, tiene una coloración marrón caoba, con una consistencia lisa y brillante dependiendo el ambiente en donde se desarrolle, pueden presentar una longitud de hasta 18 mm, se puede distinguir claramente el tórax y abdomen; éste presenta 12 espiráculos que se encuentran en binas a partir del segundo segmento; el cremáster (último segmento del abdomen) tiene dos espinas que forman una “V” invertida (Labrador, 2001).

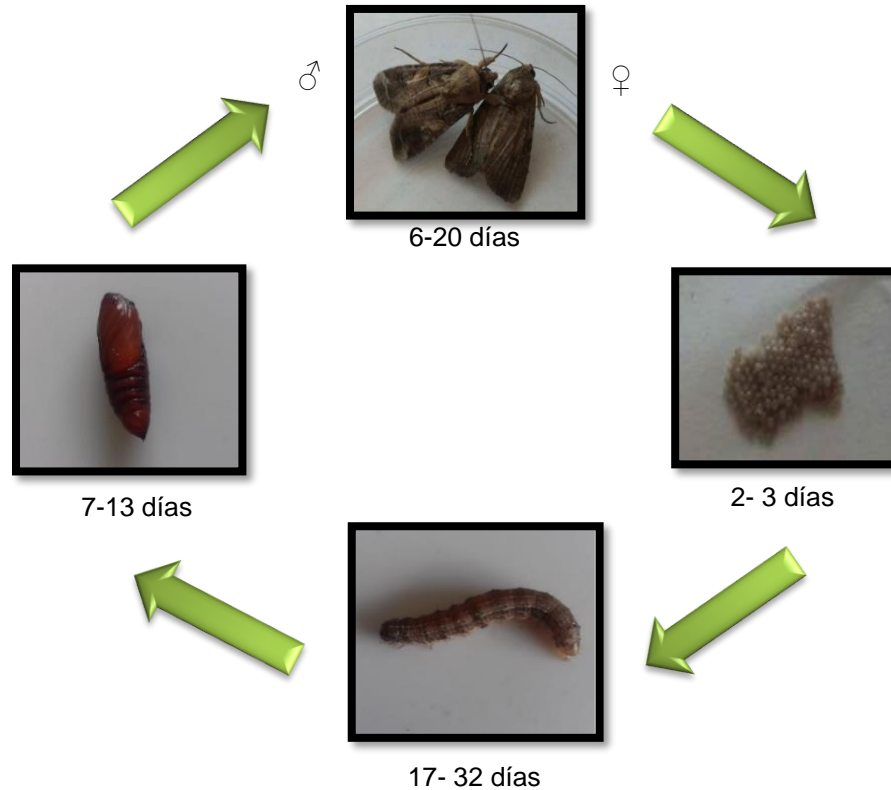


Fig.3. Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*. Tomado de Manejo Integral de Plagas (Asociación de Semilleros Argentinos).

2.6 Origen y distribución geográfica

El gusano cogollero se reconoce como la plaga americana más importante de las regiones tropicales y de las zonas templadas (Abbas Ali *et al.*, 1989). Presenta una amplia distribución que comprende desde el sur de Canadá hasta Argentina (figura 4) (Pashley 1986; Ashley, 1986). Tiene la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales a excepción de climas fríos, ya que carecen de mecanismo de diapausa (Pair *et al.*, 1991). En México, se reportó por primera vez la presencia de este lepidóptero en el año de 1888 en las localidades de Coatepec, Jalapa - Veracruz y Tabasco (Lezama, 1993); hoy en día se puede encontrar en todos los estados del país, principalmente en las zonas con mayor producción de maíz como Sinaloa, Jalisco, Michoacán, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Morelos, Nayarit, Oaxaca,

Puebla, Estado de México y Colima. (Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios, 2018).

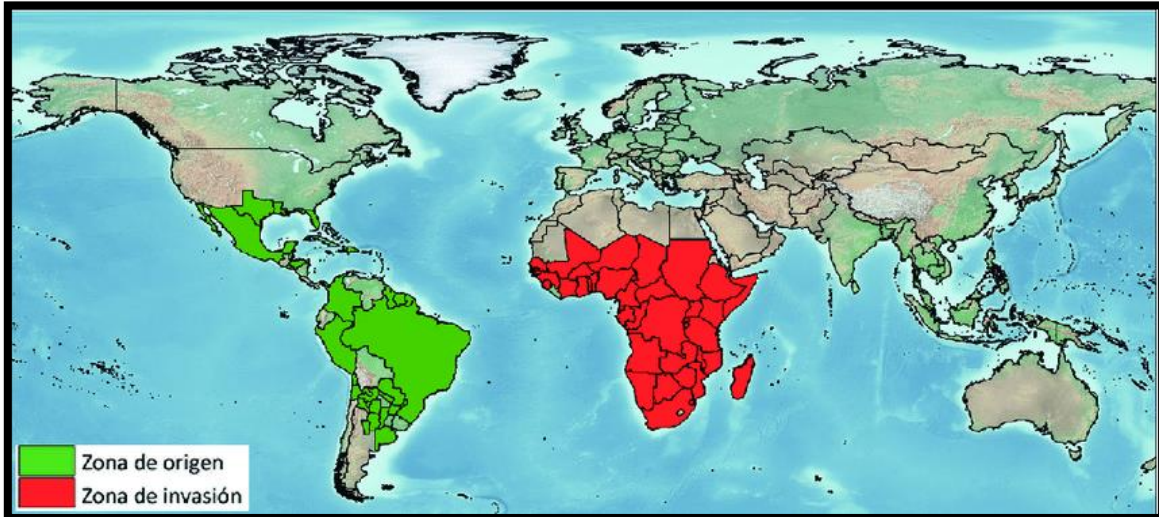


Fig. 4 Distribución de *S. frugiperda* (Germain *et al.*, 2018)

2.7 Plantas hospederas

Datos recientes mencionan una cifra de 186 especies de plantas hospederas que son atacadas por *S. frugiperda* pertenecientes a las familias Poaceae, Fabaceae, Solanaceae, Asteraceae, Rosaceae, Chenopodiaceae, Brassicaceae y Cyperaceae principalmente, teniendo preferencia hacia las especies de maíz, sorgo, arroz y diversos tipos de pastos (Casmuz *et al.*, 2010).

2.8 Métodos para su control

De acuerdo con varias investigaciones, se han implementado diversos tipos de métodos para el control de *S. frugiperda*, de los cuales el control químico es el más utilizado; sin embargo, como se ha mencionado, el uso masivo de estos químicos produce efectos negativos sobre el medio ambiente y a la salud del hombre, así como la generación de resistencia de la plaga a través del tiempo (Landazabal, 1973; Roush y McKenzie, 1987; Yu, 1991). Es por ello, que dentro de los programas de manejo integrado de plagas se han implementado trabajos de control biológico concentrados en este insecto, utilizando enemigos naturales como insectos parásitos, depredadores y patógenos como hongos, bacterias, virus y protozoos.

Otros métodos que se han empleado son el control mecánico, el cual consiste en tomar medidas de limpieza con la finalidad de impedir que el insecto encuentre un refugio que le pueda servir de protección, principalmente cuando la temperatura desciende (Flores, 2000). El uso de Reguladores del crecimiento de insectos (RCI) también ha resultado un buen método, ya que no presenta peligro alguno a mamíferos y respeta a la fauna benéfica (Hassan, 1994) además, han mostrado muy buenos resultados en el control del gusano cogollero, ya que actúa elevando el nivel de ecdisona en la hemolinfa, haciendo que la larva inicie la muda de forma prematura y desordenada (García y Tarango, 2009).

Actualmente, el uso de plantas transgénicas ha generado mucho interés y controversia a nivel mundial. Estas plantas son organismos que se han modificado genéticamente introduciéndoles a través de metodologías de ingeniería genética ADN foráneo de diferente especie. Uno de los casos más conocidos es la introducción del gen Cry1Ac de la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*, a plantas de maíz, esta bacteria expresa cristales proteicos llamados delta-endotoxinas, que poseen efectividad insecticida contra larvas de algunas especies de Lepidópteros (Tabashnik *et al.*, 2003; Waquil *et al.*, 2002). Sin embargo, se ha reportado que la exposición de los insectos a estas toxinas de manera continua, culmina con el desarrollo de resistencia, por lo cual su uso dejó de ser efectivo y, por lo tanto, se necesita explorar algunas otras alternativas para el control de estos insectos (Tabashnik *et al.*, 2003).

2.9 Actividad biológica de plantas como alternativa para el control de lepidópteros

Céspedes *et al.* (2000) utilizó limonoides extraídos de *Cedrela salvadorensis* y *Cedrela dugesii* (Meliaceae), se probó la actividad en larvas neonatas de *S. frugiperda* y como resultado obtuvieron que causó un efecto en la mortalidad (LC50) de 39, 10 y 8 ppm a los 7 días, además de inhibir el crecimiento en las larvas sobrevivientes.

Rojano *et al.* (2007) obtuvieron Berenjenol de las hojas de *Oxandra xylopioides* (Annonaceae) y evaluaron su actividad como biocida (25, 50, 100, 200 y 400 ppm) a las 24, 48 y 72 horas sobre *S. frugiperda*. Se alimentaron larvas L2 con dieta artificial

y observaron que el berenjenol resultó tener un efecto tóxico, encontrándose valores de DL50 de 319.6 ppm a las 24 horas y valores similares a las 48 y 72 horas.

Pérez *et al.* (2008) estudiaron el efecto de extractos botánicos de diez plantas en la mortalidad y repelencia producida en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera (*Elaeis guineensis*). El tiempo de exposición fue de 1, 4, 8, 12 y 24 h. A las 24 h, *E. cyparissias* presentó los mayores efectos de mortalidad en los tratamientos con los extractos de *Paullinia clavigera*, *Bixa orellana* y *Euphorbia cotinifolia*. En el caso de la repelencia, los mayores efectos sobre *E. cyparissias* se encontraron en los tratamientos de extractos de *P. clavigera*, *B. orellana* y *Brugmansia candida*.

Lizarazo *et al.* (2008) evaluó el efecto insecticida y antialimentario de extractos vegetales de *Polygonum hydropiperoides* (Polygonaceae), *Calliandra pittieri* (Mimosaceae) y *Solanum nigrum* (Solanaceae) sobre larvas de *S. frugiperda*. Se obtuvieron extractos vegetales utilizando solventes de alta polaridad y media polaridad, los cuales se aplicaron sobre las larvas de segundo instar. Los extractos de *P. hydropiperoides*, obtenidos con diclorometano en dosis de 1.000, 2.500 y 5.000 mg·L⁻¹, mostraron una mortalidad de 100% a los 12 días después de la aplicación y un efecto anti- alimentario del 4%. Mientras que los extractos vegetales *S. nigrum* y *C. pittieri* en sus diferentes dosis, presentaron una mortalidad menor al 60%.

Llanos *et al.* (2010) evaluaron la actividad bioinsecticida de extractos orgánicos de *Bursera copallifera* y *B. grandifolia* sobre larvas L1 de *S. frugiperda*. El extracto acetónico (500 ppm) de hojas de *B. copallifera* presentó actividad anti-alimentaria sobre el *S. frugiperda*, al reducir en un 50% el peso de las larvas a los 14 días. En cuanto a la mortalidad en las larvas, se observó un 47%. Los extractos acetónico y metanólico de las hojas de *B. grandifolia* mostraron un 37 y 45% de mortalidad en 14 días, mientras que su extracto hexánico a partir de tallos causó una mortalidad de 37% en el mismo tiempo.

Ahmed-Barakat (2011) evaluó la actividad insecticida y antialimentaria del extracto de acetona de las hojas de *Casimiroa edulis* (Rutaceae) contra larvas de cuarto

estadio de *Spodoptera littoralis*. El extracto crudo tuvo un valor de CL50 de 79.47 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y concentración subletal media (SC50) de 88.97 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Adicionalmente, realizaron una separación del extracto por cromatografía en una columna de gel de sílice (eluidas por diferentes sistemas de disolventes) y se colectaron siete fracciones, cinco de estas fracciones (F I, F III, F V, F VI, F VII) registraron una esterilidad porcentual de más de 50 % en *S. littoralis*. En las fracciones F I, F VI, F VII, estaba presente el ácido hexadecanoico. Los resultados sugieren que el extracto de acetona de las hojas de *C. edulis* y algunas de sus fracciones son prometedores como insecticida y antialimentarios.

Romo-Asunción *et al.* (2016), evaluaron las actividades insecticida y juvenomimética del extracto n-hexano de las partes aéreas de *Senecio salignus* DC. (Asteraceae) y de *Salvia microphylla* Kunth (Lamiaceae) colectadas en México, contra larvas del primer estadio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). El extracto de *S. salignus* mostró actividad insecticida a 500 ppm, ocasionando 52.5% de mortalidad y 62.5% de mortalidad en pupas. El extracto de *S. microphylla* causó una mortalidad en larvas de 65.0% a 500 ppm y una mortalidad en pupas de 82.5% con la misma concentración. La concentración letal media (LC50) fue de 440 ppm para el extracto de *S. salignus* y de 456 ppm para el extracto de *S. microphylla*. La actividad juvenomimética de *S. salignus* a 500 ppm resultó en el incremento de la fase larval de 17.3 días y para el periodo pupal fue de 1.4 días, también redujo el peso pupal 34.7% respecto al control (241 mg). Para el extracto de *S. microphylla*, a 500 ppm causó el incremento de las fases larval y pupal 2.0 y 12.1 días respectivamente y reducción del peso pupal de 14.1% respecto al control (243 mg). Los principales compuestos del extracto de *S. salignus* fueron el γ -sitosterol, ácido hexadecanoico, lupeol y β -amirina, y para el extracto de *S. microphylla* fueron el ácido oleico, γ -sitosterol, (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrien-1-ol, y el ácido hexadecanoico. Estos resultados indican que ambos extractos pueden ser empleados en el control de *S. frugiperda* por presentar actividades juvenomimética e insecticida.

3. Justificación

Por los múltiples efectos negativos de los insecticidas químicos se buscan alternativas como los insecticidas de origen vegetal. Con el avance de la tecnología para el estudio y descubrimiento de nuevas moléculas presentes en diferentes y nuevas especies vegetales, en las últimas décadas se han descubierto moléculas novedosas que forman parte del metabolismo vegetal y que muestran diferentes actividades biológicas, incluida la insecticida.

Ante este panorama es importante explorar nuevas especies vegetales con actividad biológica sobre insectos plaga, que estén localmente al alcance de los agricultores. Es importante incrementar el conocimiento sobre especies de plantas que presentan actividad insecticida a través de estudios bajo condiciones de laboratorio que es el primer paso para etiquetar a las plantas que poseen dicha actividad (Silva *et al.*, 2002).

4. Hipótesis

Los extractos crudos de *Tournefortia hirsutissima* poseen actividad tóxica sobre larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda*

5. Objetivo general

Evaluar la actividad biológica de extractos crudos de *Tournefortia hirsutissima* sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

5.1 Objetivos particulares:

- * Determinar si los extractos crudos (obtenidos con hexano, diclorometano, metanol y agua) de la planta *Tournefortia hirsutissima* tienen actividad biológica sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.
- * Determinar si los extractos crudos de la planta *Tournefortia hirsutissima* tienen actividad insectistática sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.
- * Obtener la CL₅₀ del extracto crudo que muestre la mejor actividad biológica sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*.

6. Materiales y métodos

6.1 Mantenimiento de la colonia

La colonia de *Spodoptera frugiperda* se mantuvo en condiciones de laboratorio con un fotoperiodo de 12:12 horas luz: oscuridad y una temperatura aproximada de 27 °C. Las masas de huevos obtenidos de los botes de apareamiento se colocaron en cajas Petri de 60x15mm junto con una torunda de algodón húmedo, la caja se selló con papel parafilm para guardar aún más la humedad y evitar la dispersión de las larvas una vez eclosionadas, después de lo cual se colocaron 2 larvas por caja petri de 60x15mm, estas se alimentaron con un trozo de dieta merídica (apéndice 1) durante todo su desarrollo juvenil, el cual fue reemplazado por dieta fresca cada tercer día. Una vez que las larvas han completado su desarrollo, las pupas obtenidas se colocaron en cajas Petri de 150x15 mm con algodón mojado con agua estéril para guardar humedad.

Una vez que emergieron los adultos, se colocaron en un bote de 4 L forrado en su interior con hojas de papel tipo bond, para su alimentación se colocaron recipientes de 10-15 mL con algodón humedecido de una solución azucarada al 10%, para posteriormente, tapar el recipiente con una malla de tela organza. Las hembras ovipositaron sobre el papel bond, del cual se recortan los huevos.

6.2 Toma de muestra de *Tournefortia hirsutissima*

La planta se colectó en el municipio de Xoxocotla (figura 5 y 6), sus coordenadas geográficas son 18°41'06"N y 99°14'38"O y su altitud es de 1,030 metros sobre el nivel del mar, el municipio se ubica al sur del estado de Morelos. Con ayuda de unas tijeras de podar se cortaron ramas con hojas. En el laboratorio se pusieron a secar sobre una caja de cartón colocando capas de las hojas cubiertas con hojas de papel para evitar la luz solar, así como para que el papel absorbiera humedad y fuera más rápido el secado. Para su identificación se consultó una guía botánica y se hizo una visita al herbario de la UAEM para confirmar su identificación.

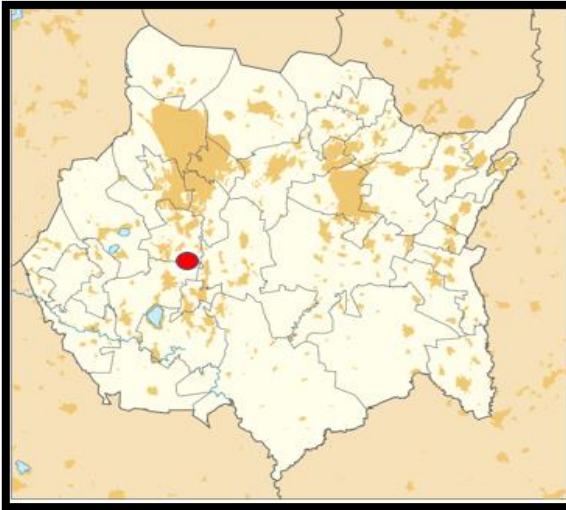


Fig. 5. Xoxocotla, Morelos. INEGI, Marco Geoestadístico Nacional, 2018.



Fig.6. Imágenes © 2019 Google, datos del mapa ©, INEGI

6.3 Obtención del extracto mediante un tren de polaridades de solventes

Se pesó el material vegetal seco y se obtuvo la cantidad de 61.2 g; con la ayuda de un mortero se pulverizó y nuevamente se pesó el polvo resultante en una balanza analítica, el peso final fue de 60 g; enseguida en un matraz Erlenmeyer se colocó el material biológico en polvo y se le agregó de inicio el disolvente orgánico hexano (apolar), se selló y se dejó reposar en un lugar oscuro y fresco durante una semana.

Una vez transcurridos los 7 días, se utilizó una bomba de vacío con la finalidad de filtrar el extracto crudo (figura 7). En un matraz Kitazato se colocó un embudo de porcelana de fondo plano, en el cual se coloca en la base papel filtro de poro mediano para separar la mayor cantidad de biomasa vegetal. El disolvente se recuperó y se guardó para su posterior concentración, la biomasa se dejó secar y se colocó nuevamente en un matraz para adicionarle el siguiente disolvente en polaridad (diclorometano). Este paso se repitió de forma secuencial reemplazando el disolvente por metanol y finalmente por agua.

Con ayuda de un rotaevaporador marca Büchi, se concentraron los extractos crudos por la evaporación rápida del disolvente (figura 8). Las condiciones de trabajo para

el vacío fueron las que se muestran en el cuadro 1, una velocidad de rotación de 100 rpm y un baño maría de 60 °C. Finalmente, el extracto concentrado se depositó en un frasco previamente pesado y forrado con papel aluminio, se colocó en una cámara de desecación, en donde se dejó durante varios días hasta que el solvente restante se evaporó por completo. Posteriormente, se volvió a pesar el frasco y por diferencia de peso se obtuvo la cantidad de sólidos totales de extracto (rendimiento).



Fig.7. Bomba de vacío. Filtración del extracto crudo



Fig.8. Rotaevaporador. Concentración de extracto crudo

Cuadro 1.- Condiciones de trabajo en el rotaevaporador para la concentración de los extractos, a un baño maría de 60 °C y 100 rpm.

Solvente	Vacío (mbar)
Hexano	360
Diclorometano	474
Metanol	337
Agua	72

6.4 Bioensayo para determinar la mortalidad en larvas frente a diferentes tratamientos

Para saber que tratamiento causa mayor mortalidad se realizó un primer bioensayo utilizando placas de poliestireno Cells Wells de 24 pozos y 16 de ellos se llenaron con 1.5 mL de dieta merídica (figura 9). De acuerdo con el rendimiento de cada uno de los tratamientos (cuadro 2), una vez que se enfrió la dieta, se colocó sobre la superficie 35 μ l de las diluciones de los extractos según el tratamiento a una concentración de 500 μ g/cm² (figura 10); Se utilizaron 3 placas para cada tratamiento y como blanco o control negativo se colocó el solvente puro (hexano, diclorometano, metanol y agua). Las muestras se dejaron evaporar por completo y posteriormente, con ayuda de un pincel de punta fina, se colocó una larva neonata de *S. frugiperda* en cada pozo. Las placas se sellaron con papel plástico adherente “Envolpack”, sobre el cual se colocó una toalla absorbente y la tapa sujeta con ligas para evitar que las larvas se escaparan de sus pozos (figura 11)

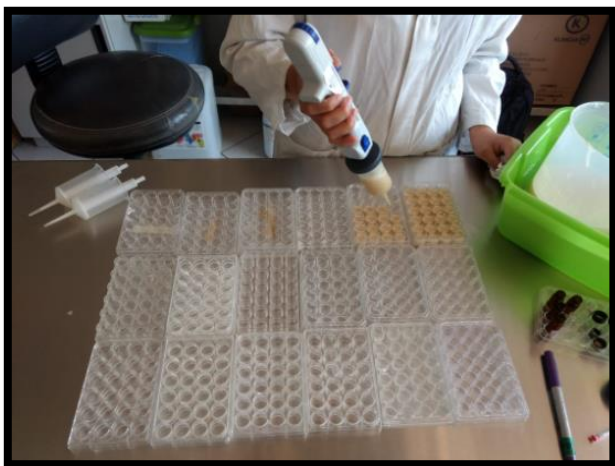


Fig.9. Aplicación de dieta merídica en cajas Cell Wells



Fig.10. Extracto sobre la dieta

Las cajas se mantuvieron bajo condiciones controladas a una temperatura de 27°C, con fotoperiodo de 12:12 horas (luz-obscuridad). El número de organismos muertos se contabilizó a los 7 días, considerando como larvas vivas a aquellas que respondieron al tacto. Las larvas que sobrevivieron se pesaron en una balanza analítica y se colocaron individualmente en cajas Petri colocándoles dieta fresca, y se siguió su desarrollo.



Fig. 11. Cajas cells wells selladas



Fig.12. extracto a diferentes concentraciones sobre la dieta

6.4 Bioensayo para determinar la CL₅₀ (Concentración letal para matar al 50 % de los individuos) y la actividad insectistática en larvas

Se realizó un segundo bioensayo con el tratamiento que causó mayor mortalidad de acuerdo con los datos obtenidos en el bioensayo uno, en el cual, el mejor tratamiento fue el hexánico con un 90.1% de mortalidad larval.

Se utilizaron placas de poliestireno Cells Wells de 24 pozos que fueron llenados con 1.5 mL de dieta merídica. Una vez que se enfrió la dieta se colocó 35 µl de las diluciones del extracto hexánico, se utilizaron 6 concentraciones diferentes (650, 500, 250, 100, 50 y 25 µg/cm²) más el control negativo (hexano) y se siguió el mismo procedimiento realizado en el primer bioensayo.

6.4 Parámetros evaluados

Se utilizaron 48 larvas neonatas de *S. frugiperda* por tratamiento en los dos bioensayos. Las variables de respuesta fueron mortalidad y peso de las larvas a los 7 y 15 días, peso y viabilidad de pupas y adultos.

6.5 Análisis estadísticos

El diseño experimental fue completamente al azar con 4 tratamientos para el primer bioensayo y 6 tratamientos para el segundo, ambos con sus respectivos controles negativos. El análisis y el procesamiento de los datos de mortalidad se realizaron con el paquete estadístico JMP® Trial, versión 8 (2008). Se realizaron pruebas estadísticas para verificar la distribución normal y la homocedasticidad de los datos. Los datos tendieron a la no normalidad y no presentaron homogeneidad de varianzas, por lo cual se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, y su comparación de medias mediante una prueba de Tukey ($p < 0.05$). Para determinar la concentración letal media (CL₅₀) se utilizaron los datos de mortalidad larval de *S. frugiperda* a los 7 días y los resultados se sometieron a un análisis Probit en el software PoloPlus.

7. Resultados

7.1 Rendimiento del extracto

La extracción de los componentes se comenzó con un peso seco inicial de 60 g de material biológico y se realizó la extracción. Los rendimientos obtenidos se muestran en el cuadro 2 con respecto a cada disolvente. El disolvente acuoso, que es el de mayor polaridad, es en el que se obtuvo el mayor rendimiento, seguido por los solventes orgánicos diclorometano, metanol y hexano.

Cuadro 2. Rendimiento de extracto obtenido por cada disolvente.

Disolvente	Rendimiento (g)
Hexano	1.3
Diclorometano	1.6
Metanol	1.3
Agua	31.2

7.2 Mortalidad de los diferentes extractos obtenidos.

Para determinar cuál de los extractos causaba mortalidad en larvas neonatas de *S. frugiperda*, se realizó un bioensayo con una única concentración y a los 7 días se determinó la mortalidad. Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento hexánico es estadísticamente diferente a los demás tratamientos, ya que registró la mayor tasa de mortalidad con un porcentaje de 90.1% con respecto a los demás tratamientos a la concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, sin embargo, aunque el disolvente hexano como control (solo disolvente) mostró un 20 % de mortalidad, entra dentro de los límites permitidos (figura 13). Respecto a los extractos en agua, diclorometano y metanol no mostraron diferencias significativas entre ellos ni con sus controles.

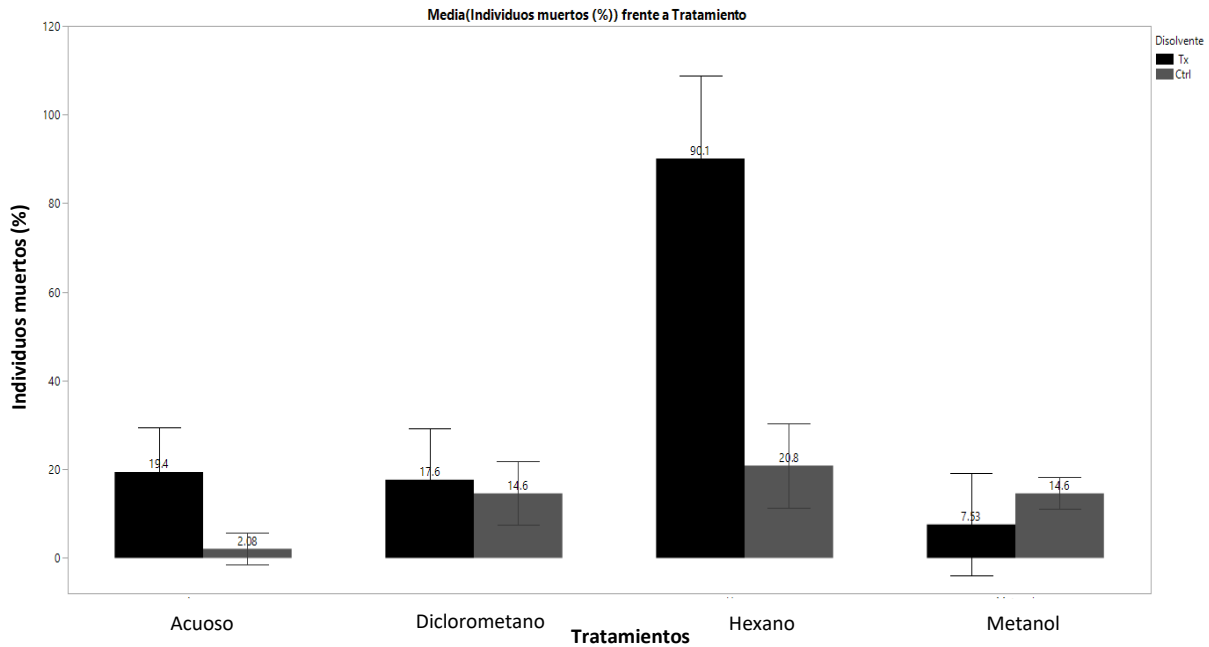


Figura 13. Porcentaje de mortalidad de larvas neonatas de *S. frugiperda* expuestas a 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de extractos crudos de *T. hirsutissima*, a los siete días de tratamiento. Se muestra la desviación estándar y las diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.0002$) entre los tratamientos con un $\alpha < 0.05$.

7.3 CL50 y actividad insectistática a diferentes concentraciones

Una vez que se determinó que el extracto hexánico fue tóxico a 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ se decidió calcular la concentración letal cincuenta realizando un bioensayo con 5 concentraciones diferentes, como se detalló en materiales y métodos. A los 7 días se determinó la mortalidad de cada una de las concentraciones y los resultados se sometieron a un análisis Probit en el software PoloPlus. En la figura 14 se muestra la curva de concentración con respecto a la mortalidad de cada uno de los tratamientos.

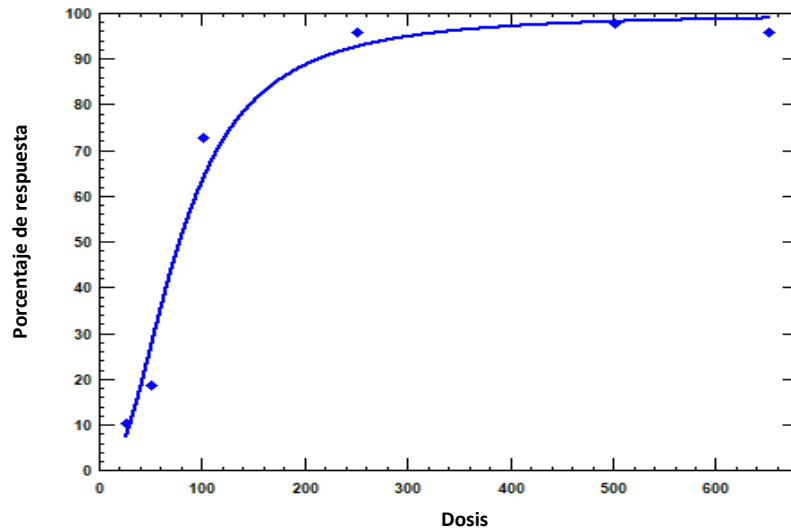


Fig. 14. Curva de mortalidad con respecto a las diferentes concentraciones utilizadas en el bioensayo. Obtenida de PoloPlus.

De acuerdo con lo observado en la figura 14, la mortalidad obtenida en el bioensayo muestra un incremento conforme aumenta la concentración del extracto hexánico. Los datos obtenidos de cada una de las concentraciones permitieron el cálculo de la CL50 la cual fue de 76.070 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (cuadro 3).

Cuadro 3. Resultados obtenidos del análisis Probit.

Activo	CL ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Límite inferior	Límite superior
Extracto hexánico de <i>T. hirsutissima</i>	76.070	48.462	116.473

7.4 Efectos en las larvas sobrevivientes de *S. frugiperda* después de los 7 días de la aplicación del extracto hexánico de *T. hirsutissima*

Se ha reportado que algunos extractos vegetales pueden afectar el desarrollo de las larvas una vez que éstas fueron expuestas a él, así que con el objetivo de determinar si el extracto hexánico afecta el desarrollo de las larvas, se continuó monitoreado a las larvas sobrevivientes en el bioensayo realizado para calcular la CL50. Los resultados se muestran en las figuras 15 y 16.

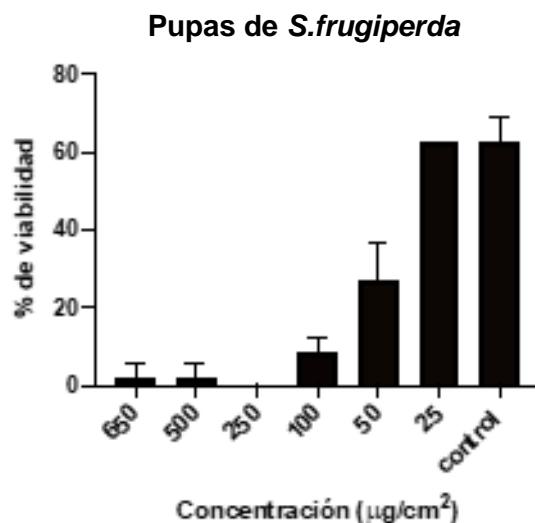


Fig. 15. Efecto de diferentes concentraciones del extracto hexánico en el desarrollo de larvas de *S. frugiperda*, en donde se muestra la viabilidad de pupas. La desviación estándar se muestra sobre las barras.

Como se muestra en la figura 15, menos del 5% de las larvas sobrevivientes que se sometieron a concentraciones altas 650, 500 y 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ alcanzaron el estado de pupa; mientras que a la concentración más baja (25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) alrededor del 60% alcanzaron el estado de pupa de la misma manera que el control negativo, es importante remarcar que el control no muestra el 100% de viabilidad, probablemente por la manipulación de las larvas. Estos resultados sugieren que el extracto hexánico a concentraciones altas puede presentar mortalidad después de los 7 días. Los resultados que se muestran en la figura 16 se obtuvieron al monitorear el desarrollo de las pupas para determinar si estas son capaces de llegar hasta el estado de adulto.

Adultos de *S.frugiperda*

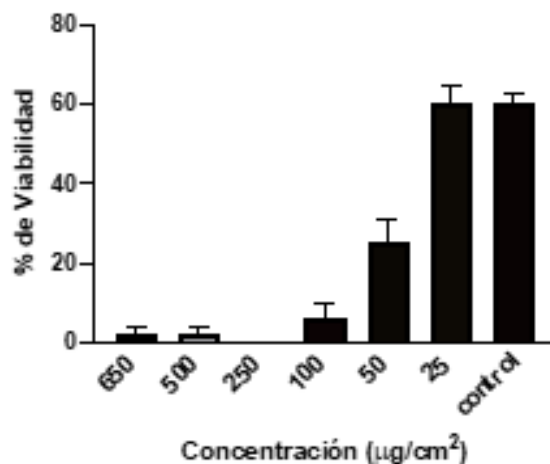


Fig. 16. Efecto de diferentes concentraciones del extracto hexánico en el desarrollo de larvas de *S. frugiperda*, en donde se muestra la viabilidad de adultos. La desviación estándar se muestra sobre las barras.

Como se muestra en la figura 16, la mayoría de las larvas que llegaron a pupa, también llegaron a adultos, tal es el caso de la concentración baja de 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y el control, donde hubo cerca del 60% de viabilidad de adultos. Esto nos indica que una vez que la larva pasó a pupa ya no hubo mortalidad en ellas.

7.5 Efecto insectistático del extracto hexánico de *T. hirsutissima* en el desarrollo de larvas y pupas

El efecto insectistático se define como aquel agente que tiene la capacidad de afectar el crecimiento y desarrollo de algunos insectos. En este trabajo, se evaluó el efecto en el peso de larvas sobrevivientes después de la aplicación del tratamiento hexánico. Los resultados se muestran en el cuadro 4, el cual muestra el peso de las larvas a los 7 y 15 días, del extracto hexánico de *T. hirsutissima*, en donde se observa que solamente la concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ tuvo diferencias significativas a los 7 días en comparación con el control. Sin embargo, a los 15 días de la aplicación de los tratamientos, los pesos no mostraron diferencias significativas entre ellos, lo cual sugiere que las concentraciones empleadas afectan el peso larval en un inicio, sin embargo, las larvas logran recuperarse y muestran el mismo peso que el control, además se observan saludables (Figura 17).

Cuadro. 4. Efecto del extracto hexánico de *T. hirsutissima* sobre el peso de larvas de *S. frugiperda*. Las letras diferentes significan que hay diferencias significativas según la prueba de Dunnett.

Tratamiento	Peso de larvas (mg)			
	7 días		15 días	
Control	8.033 ± 2.912	a	140.0 ± 52.56	a
25 µg/cm ²	11.51 ± 4.423	b	178.8 ± 76.40	a
50 µg/cm ²	6.991 ± 3.203	a	123.7 ± 57.15	a
100 µg/cm ²	5.460 ± 3.168	a	78.66 ± 69.26	a
250 µg/cm ²	ND		ND	
500 µg/cm ²	2.4 ± ND		39.60 ± ND	
650 µg/cm ²	6.8 ± ND		44.10 ± ND	

Adicionalmente, también se analizó el efecto en los pesos de las pupas, los resultados se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Efecto del extracto hexánico de *T. hirsutissima* sobre el peso de pupas de *S. frugiperda*. Las letras diferentes significan que hay diferencias significativas según la prueba de Dunnett.

Tratamiento	Peso pupas (mg)	
Control	244 ± 30.91	a
25 µg/cm ²	247.9 ± 24.47	a
50 µg/cm ²	238.3 ± 29.10	a
100 µg/cm ²	264.7 ± 30.76	a
250 µg/cm ²	ND	
500 µg/cm ²	229.2 ± ND	
650 µg/cm ²	289.9 ± ND	

De acuerdo con los resultados mostrados en el cuadro 5, las pupas no presentaron diferencias en el peso con respecto al control, sin embargo, las larvas expuestas a concentraciones altas 650, 500, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ que lograron pasar a pupa presentaron deformaciones (Figura 18). Las pupas que fueron expuestas a bajas concentraciones del extracto hexánico lograron llegar al estado adulto como se muestra en la figura 19.

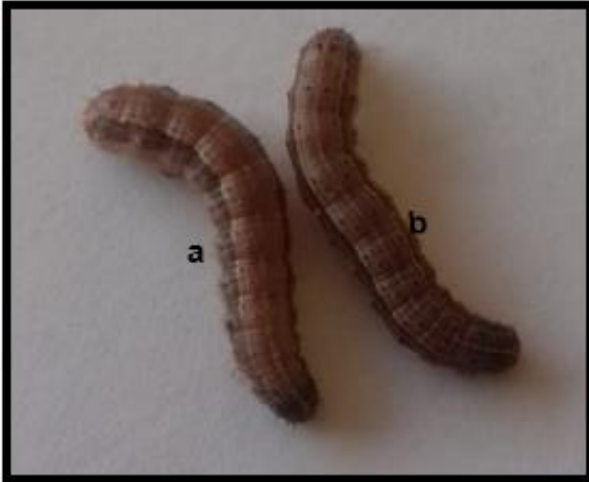


Fig.17. Larvas a los 15 días del bioensayo **larva a** =control **larva b**= larva expuesta a la concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$



Fig.18. Pupas con malformaciones **pupas a** =expuestas a 650 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ del tratamiento; **pupas b**= expuestas a 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ del tratamiento



Fig.19. Adultos de *S.frugiperda* expuestos a 25 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de tratamiento.

8. Discusión

S. frugiperda es considerado uno de los insectos plaga más importante en Latinoamérica, debido a que en su fase larval ataca principalmente cultivos de gramíneas, ocasionando pérdidas económicas importantes. Para combatir esta problemática se han utilizado insecticidas químicos sintéticos de manera excesiva lo cual ha traído consecuencias como el desarrollo de resistencia a estas sustancias. Por otro lado, también se ha intentado el control mediante toxinas (Cry1Ac, Cry1Ab, Cry1Ac y Cry1F) de *B. thuringiensis* en donde se ha tenido el mismo problema debido a la exposición continua a estas toxinas cuando se expresan en plantas transgénicas (Tabashnik et al., 2003). Debido a esta problemática, en este proyecto evaluamos diferentes extractos obtenidos de la planta *T. hirsutissima*, utilizando disolventes como el hexano, diclorometano, metanol y agua. Los rendimientos obtenidos de la extracción con estos disolventes muestran que el mejor rendimiento para la obtención de metabolitos fue con el agua con un rendimiento de 31.2 g, seguido de la extracción con diclorometano (1.6 g) y finalmente, el metanol y el hexano con un rendimiento de 1.3 g para ambos. Al realizar los bioensayos para determinar si éstos provocan mortalidad en *S. frugiperda*, se observó que el extracto obtenido con el hexano fue el que produjo una mayor mortalidad (90.1%), respecto a la extracción con agua (19.4%), diclorometano (17.6%) y metanol (7.53 %). Es importante remarcar que aun cuando el mayor rendimiento en la extracción de la planta fue con agua, esto no implica que se obtengan los compuestos con actividad insecticida. Debido a la mortalidad observada con el extracto hexánico se revisó en la literatura para determinar si ya había reportada alguna molécula que tuviera esta actividad en este extracto.

Datos publicados sobre la composición química de la planta analizada indican que dentro de los compuestos químicos que presenta, dos predominan, siendo el ácido hexadecanoico y el γ -sitosterol consistentes con el uso medicinal de esta planta como hipoglucemiante y cicatrizante entre otros (Andrade-Cetto et al., 2015; Rivera et al., 2017).

Con respecto al γ -sitosterol y ácido hexadecanoico, se ha reportado que estos han sido responsables de la actividad tóxica insecticida observada en otras especies vegetales. Uno de los casos es la identificación del γ -sitosterol como un principio activo del extracto de acetona de la corteza del tallo de *Vitex schliebenii* (Lamiaceae) el cual mostró mortalidad contra larvas de 3er y 4to estadio de *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) (Nyamoita *et al.*, 2013).

Extractos vegetales que presentan los mismos compuestos, han sido evaluados, como el estudio realizado por Ramo-Asunción *et al.* (2016) que analizaron las hojas de *Senecio salignus* (Asteraceae) y *Salvia microphylla* (Lamiaceae) para determinar la actividad insecticida y juvenomimética del extracto obtenido con n-hexano. Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que *S. salignus* presentó actividad insecticida a 500 ppm, ocasionando 52.5% de mortalidad larval y 62.5% de mortalidad pupal, así mismo *S. microphylla* presentó una mortalidad larval del 65% y una mortalidad pupal del 82.5% a una concentración de 500 ppm sobre *S. frugiperda*. Para nuestro trabajo el extracto hexánico de *T. hirsutissima* mostró una mortalidad larval de 90.1% sometidos a una concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, así mismo, a concentraciones altas (650, 500 y 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$), la viabilidad pupal fue menor del 5%, estos resultados sugieren que los extractos analizado por Ramo-Asuncion *et al.* (2016) son más efectivos, sin embargo, se desconoce el volumen empleado de la solución en sus bioensayos, por lo que no puede haber una comparación.

Además de determinar la mortalidad causada por lo extractos obtenidos de *T. hirsutissima*, nos interesamos en determinar la CL50. Los resultados obtenidos mostraron una CL50 de 76.070 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. En otros trabajos se han realizado experimentos parecidos a estos con hojas de *Casimoroa edulis* utilizando acetona para obtener los compuestos. Los resultados obtenidos mostraron una CL50 de 79.47 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ con larvas de *S. littoralis* (Ahmed-Barakat, 2011), la cual al compararla con la obtenida en nuestro trabajo se presentan CL50 muy similares. Existen otros trabajos donde se han reportado LC50, con unidades de mg/mL, por lo que es difícil compararlos, sin embargo, se mencionan a continuación.

Guzmán-Pantoja *et al.*, 2010 analizaron los extractos de hexano, cloroformo y metanol de diferentes partes de *Ipomoea pauciflora* para determinar sus efectos sobre la supervivencia y el desarrollo de *S. frugiperda*. Las larvas neonatas fueron expuestas a diferentes concentraciones de extractos crudos de *I. pauciflora* (de 0 a 4 mg/mL). La mayor mortalidad fue producida por extractos de semillas de hexano y cloroformo a 4 mg/mL (96.9 y 93.8%, respectivamente), con valores de CL50 de 1.85 mg/mL y 0.54 mg/mL, respectivamente. Las fracciones de ambos extractos de semillas se aislaron por cromatografía en columna de gravedad sobre gel de sílice y se analizaron para sus compuestos activos. Ocho fracciones del extracto de hexano y seis fracciones del extracto de cloroformo de semillas de *I. pauciflora*, exhibieron efectos larvicidas a 1 mg/mL (mortalidad de 33.3 a 88.9% y de 47,2 a 77%, respectivamente). Estos resultados correlacionan con el trabajo que realizamos, pues nosotros observamos el mejor resultado en la extracción con hexano, aunque reportamos la CL50 en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

Otros estudios con extractos vegetales realizados por Céspedes *et al.* (2000) al evaluar los limonoides extraídos de especies de *Cedrela salvadorensis* y *Cedrela dugesii* (Meliaceae) obtuvieron una CL50 máxima de 39 ppm (1.365 $\mu\text{g}/35 \mu\text{l}$), se podría pensar que es mayor la actividad de estas especies con respecto al extracto hexánico de *T. hirsutissima*, ya que las concentraciones empleadas en los bioensayos que mostraron la mayor actividad fueron más altas, sin embargo, en estos experimentos se utilizó fracciones de extractos purificados y en el trabajo que llevamos a cabo se emplearon extractos crudos en donde hay aún una mezcla de compuestos y desconocemos la proporción de los compuestos y-sitosterol y ácido hexadecanóico a los cuales les atribuimos la actividad.

Adicionalmente, nos interesaba determinar el efecto insectistático del extracto hexánico, por lo que, se tomó en cuenta el peso de larvas y pupas que ya habían estado en contacto con éste. Los resultados obtenidos sugieren que los pesos en larvas y pupas no muestran diferencias significativas respecto al grupo control (solo el disolvente hexano). Es importante resaltar que a concentraciones altas 650, 500 y 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ del mismo tratamiento las pupas presentaron malformaciones, lo que

sugiere que este extracto presenta actividad insectistática, con respecto a esto, Matías (2017) reportó que los tratamientos del extracto de *Dodonaea viscosa* provocaron deformidades en las pupas de *S. frugiperda* con alguna alteración morfológica (1000 ppm-51.1% y 2000 ppm-66.6%).

En la actualidad existe poca información con respecto al contenido del extracto hexánico de *T. hirsutissima*, sin embargo, es importante mencionar que los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el extracto hexánico podría funcionar como una alternativa para el control de *S. frugiperda*.

9. Conclusiones

- 1.- El extracto hexánico de hojas de *T. hirsutissima* fue el único que, a las concentraciones de 650, 500 y 250 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ mostró actividad insecticida.
- 2.- La CL50 del extracto hexánico de hojas de *T. hirsutissima* fue de 76.07 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.
- 3.- El extracto hexánico de hojas de *T. hirsutissima* a concentraciones altas afectó el desarrollo de pupas.

10. Perspectivas

Para tener un conocimiento más amplio de los componentes del extracto hexánico será necesario fraccionarlo mediante diferentes técnicas cromatográficas y caracterizar los compuestos químicos presentes, para poder comprobar la presencia de los compuestos responsables de la actividad biológica de nuestra planta evaluada, adicionalmente se podría analizar la actividad de los demás componentes, utilizando otros modelos experimentales.

11. Apéndice I

Preparación de la dieta de *Spodoptera frugiperda* (Mihn ,1984; Lina, 1996)

INGREDIENTES DE LA DIETA. - harina de soya 71.1gr., germen de trigo 31.7gr., sales Wesson 10.6gr., sacarosa 13gr., ácido sórbico 1gr., methylparaben (nipagin) 1.6gr., ácido ascórbico 4.3 gr., agar 14 gr., ácido acético (25%) 12 ml., formalina (10%) 4.4 ml., cloruro de colina (15%) 7.3ml., solución vitamínica 4ml.

PREPARACION DE LA DIETA. - En un recipiente de dos litros se vierte el agar en 500ml de agua destilada estéril, se pone en el microondas hasta que el agua comience a hervir, se mezcla con una espátula suavemente por 10 seg. y se repiten los pasos anteriores 5 o 6 veces más hasta que el agar se disuelva por completo. Mientras tanto se licuan los demás ingredientes en 500ml de agua destilada estéril, una vez que el agar disminuya su temperatura se le pueden agregar los demás ingredientes licuando perfectamente la mezcla, guardar la dieta en un recipiente a 4°C.

8. Literatura citada:

Abbas-Ali RG., Pitre A y Davis FM (1989). Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Egg Masses on cotton. *Environ. Entomol.* 18 (5), 881-885.

Adler-Lynn S (2001). The ecological significance of toxic nectar. *Oikos* 91, 409–420.

Agencia de Servicios a la Comercialización y Desarrollo de Mercados Agropecuarios. (2018). Maíz grano cultivo representativo de México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/aserca/articulos/maiz-grano-cultivo-representativo-de-mexico>.

Ahmed BD. (2011) Insecticidal and Antifeedant Activities and Chemical Composition of *Casimiroa Edulis* La Llave & Lex (Rutaceae) Leaf Extract and its Fractions Against *Spodoptera Littoralis* Larvae. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(9), 693-703.

Alonso-Amelot (2003). Química de las interacciones planta-animal. Departamento de química, Facultad de Ciencias, Universidad de los andes, Mérida, Venezuela. Vers 1, 3.

Andrade-Cetto A., Cabello-Hernández C.A., Cárdenas-Vázquez R (2015). Alpha-glucosidaseinhibiting activity of five mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 1,67-71.

Andrade-Cetto A., Revilla-Monsalve C., Wiedenfeld H. (2007). Hypoglycemic effect of *Tournefortia hirsutissima* L., on n-Stieptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 112,96-100.

Arrazola-Guendulay A., Hernández-Santiago E., Rodríguez-Ortiz G. (2018). Conocimiento tradicional de plantas silvestres en una comunidad de los valles centrales de Oaxaca. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*.5(1),55-78.

Bahena F., Cortez E. (2006). Gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). beneficiáis. *IOBC Bulletin* 17,1-5.

Blanco CA., Pellegaud JG., Nava-Camberos D., Lugo-Barrera P., Vega-Aquino JC., Terán-Vargas AP Y Vargas- Camplis J (2014). Maize pests in México and challenges for the adoption of integrated pest management programs. *Journal of Integrated Pest Management*, 5 (4), E1-E9.

Borbolla LS (1981). Estudio comparativo de insecticidas a diferentes dosis y número de aplicaciones para el control de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) en maíz de temporal. *Agronomía de Sinaloa*, 1,21-30.

Campos-Villanueva A., Nelly L., Delgado-Salinas A (2004). Bejucos y otras trepadoras de la estación de biología tropical de los Tuxtlas, Veracruz, México. *Cuadernos del Instituto de Biología* 36, 60-6.

Capinera LJ (1999). Fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith). University of Florida. Publication n°EENY-98.

Carpita N., McCann M (2008). Maize and sorghum: genetic resources for bioenergy grasses. *Cell press* 13,415-420. Online versión: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.06.002>

Casmuz A., Juárez L., Socías MG., Murúa MG., Prieto S., Medina S., Willink E., Gastaminza G (2010). Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 69 (3-4),209-231.

Castillo-Sánchez L., Jiménez-Osornio J., Delgado-Herrera M (2012). Actividad biológica in vitro del extracto de *Capsicum chinense Jacq* contra *Bemisia tabaci Genn*. *Revista Chapingo serie horticultura*, 18 (3),345-356. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.04.016>

Céspedes CL., Calderón SJ, Lina L., Aranda E (2000). Growth Inhibitory Effects on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* of Some Limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). *Journal of Agricultural and food Chemistry.* 48, 1903-1908.

Mokua GN., Innocent E., Mbwambo H., Zakaria LW., Bwire JO and Hassanali A (2013). Larvicidal and brine shrimp activities of *Vitex schiliebenii* extracts and isolated phytoecdysteroids on *Anopheles gambiae* Giles S.S larvae. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences* 3,(05), 91–95.

Fernández JL (2002). Estimación de umbrales económicos para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en el cultivo del maíz. *Invest. Agr: Prod. Prot. Veg.* 17(3).

Flores- Macías A., Vela-Correa G., Rodríguez-Gamiño ML., Akhtar Y., Figueroa-Brito R., Pérez-Moreno V., Rico-Rodríguez MA Y Ramos-López, MA (2016). Effect of potassium nitrate on the production of ricinine by *Ricinus communis* and its insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda*. *Rev Fitotec. Mex.* 39 (1),41 – 47.

Flores R (2000). Efecto de la variedad de maíz sobre el desarrollo y susceptibilidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis*. Universidad de colima (tesis de maestría). Tecomán, Colima, México *frugiperda* (Smith) corpoica.26.

García G., Tarango S (2009). Manejo biorracional del gusano cogollero del maíz. instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias (INIFAP). Folleto técnico 30.

García-Mateos R., Pérez-Pacheco R., Rodríguez-Hernández C y Soto-Hernández M (2004). Toxicidad de alcaloides de *Erythrina americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 27, 297-303.

Germain JF.,Reynaud P., Goergen G y Silvie P. (2018). Un noctuido americano invade África. *Phytoma Espana*. 57-61.

Golob P., Moss C., Dales M., Fidgen A., Evans J and Gudrups I. (1999). "The use of spices and medicinals as bioactive protectants for grains". *FAO Agricultural Services Bulletin*. Núm. 137. Rome.197.

Gutiérrez-Lugo M., Barrientos-Benítez T., Luna B., Ramírez-Gama RM., BYE R., Linares E., Mata R. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of some crude drug extracts from Mexican Medicinal Plants. *Phytomedicine*.2 (4): 341-347.

Guzmán DA., Rodríguez J y Valencia SJ (2016). Identificación de estadios larvales de lepidópteros- plaga de maíz. Centro Internacional De Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 46.

Guzmán-Pantoja LE., Guevara-Fefer P.,Villarreal-Ortega ML., León-Rivera I., Aranda-Escobar EI., Martínez-Peniche RÁ, Hernández-Velázquez VM.(2010). Biological activity of *Ipomoea pauciflora* Martens and Galeotti (Convolvulaceae) extracts and fractions on larvae of *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology*. 9 (24), 3659-3665

Hassan SA (1994). Activities of the IOBC working group pesticides and beneficiáis. *IOBC Bulletin* 17,1-5.

Helber A., Mejía R (2007). El gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (JE.Smith) (Lepidóptera: Noctuidae) y algunas plantas transgénicas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 1, 103-113.

Hernández MA., Rojas F., Portillo R, Salgado M. A., Petranovskii V., Quiroz K. (2016). Textural properties of hybrid biomedical materials made from extracts of *Tournefortia hirsutissima* L. imbibed and deposited on mesoporous and microporous materials. *Journal of Nanomaterials 2016*, Article ID 1274817, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1274817>.

Isman-Murray B (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51,45–66.

Isman-Murray B (2008). Perspective botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest. Manag. Sci.* 64,8–11.

Labrador J (2001). Estudios de biología y combate del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (S y A). Facultad de agronomía. Universidad del Zulia. Maracaibo.83.

Landazabal J., Fernández F y Figueroa A (1973). Control biológico de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), con el nematodo: *Neoplectana carpocapsae* en maíz *Zea mayz*. *Acta Agron. (Colombia)*. 23,41-70.

Lezama R (1993). Patogenicidad de hongos (Hyphomycetes) y del nematodo entomopatogeno *Heterorhabditis bacteriophora poinar*, sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Universidad de Colima (tesis especialidad en biotecnología),.8-17. Manzanillo, Colima.

Lina L (1996). Evaluación del efecto toxico de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* sobre estadios inmaduros del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda* Smith) y del gusano soldado (*Spodoptera exigua* Hubner) en condiciones de laboratorio. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (tesis de licenciatura). 50. Distrito federal, México.

Lizarazo K., Mendoza C., Carrero R (2008). Efecto de extractos vegetales de *Polygonum hydropiperoides*, *Solanum nigrum* y *Caliandra pittieri* sobre gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*). *Universidad Nacional de Colombia. Agron. Colomb.*26 (26), 427-434.

Llanos L., Salinas DO., Valdés Ma.E., Gutiérrez M., y Valladares MG (2010). Evaluación bioinsecticida de extractos de *Bursera copallifera* (D.C.) Bullock y *Bursera grandifolia* (Schltdl.) Engl. en gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Polibotánica*, (29), 149-158.

Matías A (2017). Producción en vivero de *Dodonaea viscosa* L. Jacq (Chapulixtle) para evaluar su actividad insecticida sobre *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero). Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del estado de Morelos (tesis de licenciatura). 34. Cuernavaca, Morelos.

Mihn J (1984). Técnicas eficientes para la crianza masiva de infestación de insectos, en la selección de plantas hospedantes para resistencia al gusano de la mazorca elotero *Heliothis zea*. Centro Internacional para el Mejoramiento del Maíz y Trigo. Folleto técnico. 17.

Miresmailli S., Isman B (2013). Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science- Cell press*. 19(1).

Monroy- Ortiz C. y Castillo- España P. (2007). Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos-Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (CONABIO) .405.

Montesino M., López H., Hernández J., de Zayas E (2009). Insecticidas botánicos como alternativas para el manejo de plagas en sistemas agroforestales. *Agricultura orgánica*. 24-26.

Morón M., Terrón RA (1988). *Entomología práctica*. Instituto de Ecología. UNAM.502.

Negrete BF., Morales A (2003). El gusano cogollero del maíz *Spodoptera* Nieto HR (1983). Biología, identificación de instars y efecto de diflubenzuron en *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis Profesional, Facultad de Agrobiología Presidente Juárez. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Nyamoita MG., Ester I., Zakaria MH., Wilber L., Ochola BJ, Ahmed H. (2013). Larvi-Osorio AF (1949). El gusano cogollero del maíz en México. Comisión del Maíz, folleto de divulgación. 7-34.

Pair SD., Raulston JR., Westbrook JK., Wolf WW y Adams SD (1991). Fall armyworm (Lepidóptera: Noctuidae) outbreak originating in the lower Rio Grande valley, 1989. Fla. Entomol. 74,200-213.

Pérez D., Iannacone J (2008). Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidóptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis quineensis* por efecto de diez extractos botánicos. Rev. Soc. Entomol, Argent. 67(1-2),41-48.

Pérez E (2012). Plaguicidas botánicos: Una alternativa a tener en cuenta. Fitosanidad, [en línea] 51-59. Recuperado desde: https://www.researchgate.net/publication/284284409_PLAGUICIDAS_BOTANICOS_UNA_ALTERNATIVA_A_TENER_EN_CUENTA.

Ramo-Asunción D., Ávila- Calderón MA., Ramos-López J., Barranco- Florido E., Rodríguez-Navarro S., Romero- Gómez S., Aldeco- Pérez EJ., Pacheco- Aguilar JR and Rico-Rodríguez MA. (2016). Juvenomimetic and Insecticidal Activities of *Senecio salignus* (Asteraceae) and *Salvia microphylla* (Lamiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Entomological Society, 99 (3),345-351. Recuperado de DOI: <http://dx.doi.org/10.1653/024.099.0301>.

Richardson A., King W. Ken. (2009). *Tournefortia hirsutissima* (BORAGINACEAE) new to the flora of Texas J. Bot. Res. Inst. Texas 3(1), 465 – 467.

Rivera G., Hernández DY., Sánchez ML (2017). Healing cream *Tournefortia hirsutissima* L. Med aromat plants (Los Ángeles) 6, 295, 1-4.

Rojano B., Gaviria C., Sáez J., Yepes F., Muñoz F y Ossa F (2017). Berenjenol aislado de *Oxandra cf xylopioides* (Annonaceae) como insecticida. Vitae 14 (2)

Roush RT., y JA McKenzie (1987). Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. Ann. Rev. Entomol. 32, 361-380.

Ruíz C., JA., E. Bravo M., G. Ramírez O., A.D. Báez G., M. Álvarez C., J.L. Ramos G., U. Nava C. y K.F. Byerly M. (2013). Plagas de importancia económica en México: aspectos de su biología y ecología. Libro Técnico Núm. 2. INIFAP-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco. 447..

Rzedowski G. C. de, Rzedowski J. y colaboradores (2005). Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª. ed., 1ª reimp., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán).1406.

Rzedowski J. (1994). Vegetación de México. Ed. Limusa. México. 532.

Sifuentes JA (1978). Plagas del maíz en México: Algunas consideraciones sobre su control. INIA-SARH, Foll. De Divul. (58), 30.

Silva G., Lagunes A., Rodríguez JC y Rodríguez D (2002). Insecticidas vegetales: Una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. Manejo integrado de plagas y Agroecología (Costa Rica). (66), 4 - 1 2 susceptibilidad de larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Tabashnik BE., Carriere Y; Denno TJ; Morin S; Sisterson MS; Roush RT; Shelton AM y Zhao JZ (2003). Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and fields. J. Econ. Entomol. 96(4), 1031-1038.

Ulloa C., Acevedo-Rodriguez P., Beck S., Belgrano MJ., Bernal R., Berry PE., Brako L., Celis M., Davidse G., Forzza RC., Gradstein SR., Hokche O., León B., León-Yáñez S., Magill RE., Neill DA., Nee M., Raven PH., Stimmel H., Strong, MT., Villaseñor JL., Zarucchi JL., Zuloaga FO y Jorgensen PM (2017). An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. Sciences Journals. (358), 1614-1617.

Villavicencio-Nieto MA y Pérez-Escandon (2010). Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hgo, Mex. Polibotánica. (30), 194-196.

Waquil JM; Villela FM y Foster JE (2002). Resistencia do milho (*Zea mays* L.) transgênico a lagarta-docartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidóptera: Noctuidae). Rev. Brasileira de Milho e Sorgo 1(3), 1-11.

Willink E., Osorio VM y Costilla MA (1993) Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. Rev. Ind. Y Agric. de Tucumán. 70(1-2):49-52.

Yu, SJ (1991). Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Pestic. Biochem. Physiol. 39, 84-91.

Zagal JN (2015). Incidencia y severidad de *Spodoptera frugiperla* J.E.Smith en cuatro híbridos comerciales de *Zea mays* L. en Virú- La Libertad. Universidad Nacional de Trujillo (tesis de ingeniería), Trujillo-Perú. 25-46.

Zapata N., Ceballos R., Céspedes C., Alarcón J., Leyton A (2016). Actividad insecticida y reguladora del crecimiento de extractos de *Blechnum chilense* (Blechnaceae) y *Condalia microphylla* cav. (Rhamnaceae), sobre larvas de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe De Plantas Medicinales Y Aromáticas, 15 (2), 77-87.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad *Acreditado* por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Mor., 27/11/2020

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **LUCENA CUEVAS AZUCENA**, con el título del trabajo: **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tournefortia hirsutissima* SOBRE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

ATENTAMENTE

M. EN C. ALEJANDRO FLORES MORALES



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ALEJANDRO FLORES MORALES | Fecha:2020-11-27 16:44:28 | Firmante

AS8k6HHMi1FYNTAA/53LkJZhDulj17EoG8DaXISRhUcIglNwVo9L419I3U7aLdaqrUegTWkQWAioX/sRIEyx9o7Bnh0x+SSyd4tWC3BAT+taQJNuE3SKD/+T0kzVnMP++T2KGIJkCvYE98F1n/Whzj14hKb+yDofZmi+1WlqAhZKkunJw2vvi1LpQAMWFTgz/jgBKlevTtSzGn5nrVKmap3Lu4DZDs9nI4vD/VA2j8OBvxLBZpcmv9Os+g10toJecWeoBLqu+3+U+DzJFbMk1UKfBkjr9qZw2D/s9zVeSt7MDo/xIRFH/gdu9QJH0vBbMCLejkhM7S8XQ0llwQ==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

[SziTbE](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/PUuFMELxOZ3Hs6EfJILSIXns9SRwNUkk>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología
Programa Educativo de Calidad Acreditado por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Mor., 27 de noviembre de 2020

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **LUCENA CUEVAS AZUCENA**, con el título del trabajo: **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tournefortia hirsutissima* SOBRE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI (X) NO (____)

ATENTAMENTE



DRA. SUSANA VALENCIA DÍAZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

SUSANA VALENCIA DIAZ | Fecha: 2020-11-27 15:53:43 | Firmante

I7zz88K0pVF2zXDBXXWFnPVRKw89hUHhGY+6qR1GcQKfJ/qOT6VvE/h032Aj5uFPxehg6aUoOEjAXWrhseiHTLua3O6RXmvalQ7ffcD1E17ArLoBxOv4Bn3FijTh5Sci2u3y2N50O57L4qe3cXJ7whYtQ1qGLK4gk4x4Gb+9Volcc8/ChLMvxpiVQKpMpHj+Nzi6vg9XBBIZU229xh5kgaL0jPDVANfC2QllbF+hU5PBWLANuMS7FbFWthfzgAe464fHnLWb56gvLs6RjpX2rAg+0/St0PE+RBQjgKhv7dkoDDtiUifcPtiKCoLcR61wATb9CIZagsh83y63B3vIQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



tnMouy

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/vmz8Z7IK2SQEC8JcsDU3zueTzgG8sZQM>



Cuernavaca, Mor., 27 de noviembre de 2020_

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **LUCENA CUEVAS AZUCENA**, con el título del trabajo: **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tournefortia hirsutissima* SOBRE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

A T E N T A M E N T E

M. EN C. LAURA PATRICIA LINA GARCÍA
PITC Centro de investigación en Biotecnología



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

LAURA PATRICIA LINA GARCIA | Fecha:2020-11-28 09:21:54 | Firmante

fq/9IUJYfhSvN7MTTubKtwqYwjgKf7mbalaWc3EFX556jglAOSAe93ZaqHlesIFx8VZ+ODfHVxzbULntZNI4piHHarhSyb5kwHoj5pRG0ri8GGRI2rlLWQhOmx/s6FpaUdJRvGMWFxtgalptJmL31agugAukta/zpb9CSshORi8jmxU5HuXDmwW56AbIcuRnX0auNnaaw4g2kyw4lj7c6l6zDci6i08OU+ZSoLI3vDNDTYAKhkpJzTmtNmN7MnAW3JrJvdXM1L386b8xC2rDSm0lBzx96qacd7BjJUS0rh4CMyoj3gzaSM7ceLrrjG8duMUSsh64Gn0w6aYHtFerS7g==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[zYwpiy](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ZwPeqZ2fhbSNPtnlBPfxzwpDjllgeRJ>



Cuernavaca, Mor., 14 de diciembre del 2020

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **LUCENA CUEVAS AZUCENA**, con el título del trabajo: **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tournefortia hirsutissima* SOBRE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI (X) NO (____)

A T E N T A M E N T E

DRA. VERONICA OBREGÓN BARBOZA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

VERONICA OBREGON BARBOZA | Fecha:2020-12-01 22:55:00 | Firmante

TTUyeHQunpQhoA7qVF+H+bQ0xhDQ9QEnBTZgGS5jZQqoJYRQ8LzNVVvKOMgnGkfXPqLUob4J8WN4cLLdED6ySb0t18I5obqrOpDyHldo5yc6Voli1r/o4MvC8OPTGb/xJLoVC28q6Z3Ff1I6tLwEiWcrx0hu6tjh3Bg8ANLq6K4s11amUxLNGO2T8iMpy/0F114dLDplN4Gq62D/PABe6tRZOqy188mKItSm8I7ALiQH075VSd8E+eZyAGEbZiA44TxyjDWHbdBq6fTvQRVUfQ835CpgNa/xPaLL3LjvE55kUaN5c/b+xCwPB2b0S6I0rH4JWmZ97YpQc7UbPbv1A==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

5DudQf

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/FyRIWgc8cRtt4pD7EME9uqhCxpHQsuQ>



Cuernavaca, Mor., 14 de diciembre del 2020

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **LUCENA CUEVAS AZUCENA**, con el título del trabajo: **ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Tournefortia hirsutissima* SOBRE LARVAS DE *Spodoptera frugiperda***. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

ATENTAMENTE



DR. CALEB CASTILLO LORMENDES



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

CALEB CASTILLO LORMENDEZ | Fecha:2020-12-14 23:48:03 | Firmante

CA+FDto5nV0XSy0S6++51ktfyaOslgz5W7IV3GVmwocKe31eD5O9OtzfKkDF8WVB2+6h+432HY75b4ngO+0rkxUGHALvrfyuz9NF3yA6fgzH2TEleWjFO/qGg1qwwMM8BrjWUGx
eKrXndhwht+pRzbs2ZhaImB1pJpMLwbtrazmvthc0FUCjZBCPB+KJRTYR3TYPbd0R9YONuJpEvUeHymKjCkChdd8yz4HvbT72M6zFSK4Y0IU89/00Hc69CSpICUSwY+anMaH
RvOxKGeoo7RLJ4pwFPEvLKl3N4Rc+G1VQDgd+cFgd8ssr8hwwK7lc4ByH04OvTKNtrz+jVQ==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

[8neqUV](#)

<https://efirma.uaem.mx/InoRepudio/ArPhcc1s8lsleMhxRj4P7AJZS1y55Fv>