



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

**Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*,
Ricinus communis y *Serjania schiedeana*
contra *Melanaphis sacchari* Zehntner
(Hemiptera: Aphididae)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS NATURALES

LÍNEA TERMINAL EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

M. en C. CÉSAR SOTELO LEYVA

DIRECTOR: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

CO-DIRECTOR: DR. GUADALUPE PEÑA CHORA

Cuernavaca, Morelos.

Junio 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ



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

DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2020-06-04 19:28:48 | Firmante

IWq87ZGeR8vUHgzG6927b+CSvc9OrKLHR79d3b7xNFhq2KNHA6q81LdjZHPPp+E7c87cAqoSfNc9ka1qXUvvtAUJzfNR6PdmEFXi8O7zSWMJc5ZAmuLiDIYHPshKowPulgso
O8ozjqwkU3ooQwNcMnhklwBPnQ/TojqwhwEYTVe/hl0xeo5URWdXxothaj4bJsRFCKTJc3xlDa/B91XZA8uohNYe6LmHFuepUgEd3CpdwjcSKvcc/xl/OEITiZL+oZ7ZAHsyQvngJN
42kWp10Yavn7CN22xcrqDROcMIV2enphydPdv3E0VdRAGsaGuuuuyeH7dClcjUEK+0dbCwQg==

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



XFCJwA

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/h2VWSCml1k2kzVGhF72CJINOACUWJBpB>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIÓLOGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DR. GUADALUPE PEÑA CHORA



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

GUADALUPE PEÑA CHORA | Fecha:2020-06-04 20:44:41 | Firmante

PbNrnchJTCZF0A0CWCdUNd2l24WmJFc/0lmAMVxpLH0xs6Sqowa305xSMzm9PKqIZWynjTyzDUUfjal9ra9Zidc007hDjg/GWnHo2yi8jalPV4YRC89p+Mfxmfl4lq5z2D+8F8gtc
kBThtXAbVL7n9DPyEZuF6+kAZgssm2WWu21RWX0qfDpl7pw2PI9slykpqURAJr5cJQks+R8FP2Azu6V111iGa9Ac0/i3l2+KBxZaa0mT5Ww/sCEqdCVGw5ZTVvC5FZUWTOE6vl
3qcR5gesdu1WwJxBzRa4GF9rVXuStG95kc6jW4XkDIUHee78XuT4k8O8anNJAYtHFRsBw==

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



[K0ajSO](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/pBOI57nrBhZD6WZHOUxWRniSJheoGvhw>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIÓLOGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DRA. MARÍA LUISA TERESA VILLARREAL ORTEGA



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

MARIA LUISA TERESA VILLARREAL ORTEGA | Fecha:2020-06-04 16:24:31 | Firmante

Tb7jxbS+ooo7MonK8ohc/JjeTKmvWcWWhmcxfYRLiCwaejR0mDqCtHHJRQIOxqyThWBnbCbeH/puiKotJ5QdXHAKxQzYfFXa6S4pIJCyZsViajA6b/+rjjuGcWpSI46hZK/N2As2Nvkw5F6rwemN4e1yvCl5Yn6uBDXgQbsXtereMNVy4uqF3hQEC8kRuyyxJ21TBLjfsQqCjclHIJ3omKYLj9iLLIJF+2fZ21mut9qTN3mFrmjG1I2FucT1OzY4I32cWrP+dMTZ9Kja4P7si vn2+eH3FzJuf3MGDhqFuKuxBHpmpFo/5xROUKLPdsmmSe2nAx9QZFaig1gamg==

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



tyGzjV

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/4QPDtLdO7AjExIAT9vzh5TKULG4jsTPN>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIÓLOGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DR. ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA



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

ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA | Fecha:2020-06-04 20:02:48 | Firmante

EzcNrzuM9h/lru7spWnhso0k8VJ4DEtMaJEq6kyd9yFPb2fhyi76HbvjUzgE1M3few/Nfz45YIF7B1g8m5T71fQ5//d6OQaVqkWJj70LOd6hlovXUIZhdTgr8dXk+D8P/WbQqKxDgGXbAlkQqC44DCnc8C9kKnSFgQ+NFq2WESBtlyhKvNlmQN/ROtAVZ2HHRwyyv32i/63nWKvSPbtrINIVcQ4vLM8brG18CKB3zDc9T2iLdJVt0VzPWEYXdP1qIbM08SmgnCZxg2AWSoBJobzld2PpENQ0CR5L7J89rSf8F1V0zWV1VuzYEli50jIFjh6hIN8oLYk0O0bxL28Wvw==

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



dWhQMZ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/ZGeXgbz0e032LffY2U6AYzwPFBRKOV89>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DR. VÍCTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ



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

VICTOR MANUEL HERNANDEZ VELAZQUEZ | Fecha:2020-06-05 11:11:58 | Firmante

uFmTUHym7A6yoE1oAU4AojnTdYOSpsfKSmCUXulkWABnHzVt1VB9bUCZ+p01HzJ9SmepgAuBCX+I+dSy51hoo7OM6EdA8x8gB5th68I6xAhUhGTirCbFRIC6hnoH65/MUG2PQmKG2A32NTI98j+0lrCH/U1gEuNHuChb9Jv7kRjyXRqVlhfdHbBN0DaWLDy6/7yZzspR+syxPubTvpAYDbhBjpSEHXH1/zB8Gmmpvy8onksF0GFgLDy4jlpzhwjyH+Svc+xpNXw yCWsP5CsOOES5ezcPb+/sOkteQxYAGC7ivF9wke1wkDlw9b82kqj1kQtqjGpxBLuPvPKg0hQ==

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



CYWJrZ

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/yHj7Kd2mOCAUmzpuwLkyi203e0Tm0yP9>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIÓLOGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DR. ALEJANDRO ZAMILPA ÁLVAREZ



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 ZAMILPA ÁLVAREZ | Fecha:2020-06-05 08:35:24 | Firmante

fqrj3S6q+UkWPmGbhBFmri6PX08eLCj3jEJ4rXwvD/SIV8kizNtpSd+pqhSXRqVnrOhsr4/UGKmRvclVoQlUskIhoW1uxGhqVE5/tDZyDQSmw5WvoljUI7LX8iDIWVAekDqjYZfUX
awdk9kJ6V2f9r83fT4ZR9PXzBPFnCFvPEOnPy2bk5EiD6tcuAvBGXJU0bECT54TD/bXkvYhpVdf+DI7BMHDhi8szouaM1slt1QISKRK+Y61Uiy4Yc6w+ghotsb+ofj5HUy8kWDAG9
3NwA+REfpX5g9zYlu4qRDWh/YuzDcsePff9SSI5WvZiODXH8nmzwpYzVuoNyr/BZFhCA==

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



4NELdY

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/6S2G7sv19XNd8QUFQRcUUw4Xw9sRvoq>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIÓLOGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES
DES DE CIENCIAS NATURALES

Cuernavaca, Morelos a 12 de mayo del 2020

COMITÉ DE REVISIÓN DE TESIS

Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez - Director
Dr. Guadalupe Peña Chora - Codirector
Dr. Víctor Manuel Hernández Velázquez
Dr. Alexandre Toshirrico Cardoso Taketa
Dr. Manasés González Cortázar
Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Dra. María Luisa Teresa Villarreal Ortega

Tesis: Actividad afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* contra *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Alumno que lo presenta a revisión: **CESAR SOTELO LEYVA**

Programa: **DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES**

VOTO

El documento ha sido revisado y reúne los requisitos para editarse como TESIS por lo que es
APROBADO

ATENTAMENTE,

DR. MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR



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

MANASÉS GONZÁLEZ CORTÁZAR | Fecha:2020-06-05 13:52:24 | Firmante

nNN75ZuSL8RbJkfesSrSkBzlh4tSEGnrh8vD/a7FZ8npLQwYpU5yXy3CDIxeVmZbx4vr0KRk7HBmi5sbKKVJhhYrtSAMWLaZrEc+Xvze8oGklSZqp58WTEvhdJEvsasq62CfKU56R
GXiiNCR1J6Qkgwd8EKwEnMsiw1XwnvdLLsyMm8HtPUAq2lxYB18O2HyLxfG86cauUr9Y9g+ktZ0/bAC8Gf/7xfYi2PJhqVymWRQ327Wa3j6ZMi4a8VtSxTXIfITmvGZfNvG6JjepDz
9+GTXXCvlyZzQT/xnhEbNYuuWxrfwtpz49nW0b+B1YWugsAN7vxWYWZApEcXJSOdW==

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



[bz98yK](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/mzgbX5s7i575WB8EiOqNRHj5yVVnmpzb>



COMITÉ TUTORAL

DR. DAVID OSVALDO SALINAS SÁNCHEZ

**Profesor Titular, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación
(CIByC) Universidad Autónoma del Estado de Morelos, SNI NIVEL I**

DR. GUADALUPE PEÑA CHORA

**Profesor Titular, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) Universidad
Autónoma del Estado de Morelos, SNI NIVEL I**

DRA. MARÍA LUISA TERESA VILLARREAL ORTEGA

**Profesor Titular, Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB)
Universidad Autónoma del Estado de Morelos, SNI NIVEL III**

DR. ALEXANDRE TOSHIRRICO CARDOSO TAKETA

**Profesor Titular, Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB)
Universidad Autónoma del Estado de Morelos, SNI NIVEL II**

DR. VÍCTOR MANUEL HERNÁNDEZ VELÁZQUEZ

**Profesor Titular, Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB)
Universidad Autónoma del Estado de Morelos, SNI NIVEL I**

El Doctorado en Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo.

El alumno del Doctorado en Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, César Sotelo Leyva, recibió beca del Programa para el Desarrollo Profesional Docente en Educación Superior (PRODEP-511-6/17-6413/UAGro-219) de Febrero de 2017 a Enero de 2020, tramite realizado por conducto de la Universidad Autónoma de Guerrero.

El presente trabajo se llevó a cabo en:



**Laboratorio de Fitoquímica y Productos
Naturales del Centro de Investigación en
biodiversidad y Conservación de la
Universidad Autónoma del Estado de Morelos
(CIByC-UAEM)**



**Centro de Investigación Biomédica del Sur
del Instituto Mexicano del Seguro Social.
Departamento de Farmacología y de
Fitoquímica. Xochitepec, Morelos**

DEDICATORIA

A mi esposa **Janet Tagle**, por apoyarme incondicionalmente en realizar mis estudios, desde siempre fuiste un gran apoyo en mi vida y puedo decir que eres lo más importante para mí y soy feliz por la familia que hemos formado. TE AMO.

A mis hijos **Ian y Mark** fueron ustedes mi inspiración para poder superarme académicamente, los dejé muy pequeños y sufrieron mi ausencia, pero todo valió la pena, los quiero mucho mis bebés.

A mis padres **Francisco Sotelo y Edith Leyva** quienes me formaron como una persona de bien y apoyándome siempre para lograr todas mis metas. Los quiero mucho.

A mis hermanos **José Francisco y Mariana** por ser parte importante en mi vida y estar presente siempre en todos los momentos.

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de tesis el Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez le agradezco enormemente por todo su apoyo para formarme como investigador, gracias Dr. David lo considero un amigo.

A mi Co-director de tesis el Dr. Guadalupe Peña Chora, gracias por su apoyo y sus consejos que fueron importantes en mi formación.

A mi amigo el Dr. Javier Saldaña Almazán Rector de la Universidad Autónoma de Guerrero, por autorizar mi beca para estudiar un doctorado de alta calidad, gracias por tu apoyo y brindarme tu amistad.

A la Dra. María Luisa Villareal Ortega quien como coordinadora del programa de Doctorado en Ciencias Naturales confió en mí para ingresar al programa. Muchas gracias doctora me voy con la satisfacción de que no le fallé. Y por sus importantes consejos en mis seminarios, fueron muy significativos para su servidor.

Al Dr. Alexander Cardoso Taketa gracias por su enorme enseñanza en el mundo de los productos naturales y su amable atención con mis dudas.

Al Dr. Víctor Manuel Hernández por sus consejos en estadística en cada uno de mis seminarios, quienes fueron sustanciales en mi tesis.

Al Dr. Alejandro Zamilpa por todo el tiempo académico que me brindó, Dr. Zam sabe que lo admiro y si me permite continuar colaborando con usted.

Al Dr. Manasés González le aprendí mucho en el mundo de la química y le agradezco enormemente su amistad, gracias Dr. Man.

Al M.C. Gabriel Flores Franco por apoyarme en la identificación de las plantas utilizadas en mi proyecto y por ser un amigo.

A la M.C. Adriana Trejo Loyo por sus importantes enseñanzas en el complejo mundo de los áfidos.

A mis compañeros Amigos estudiantes de doctorado, Edgar, Samuel, Jaime, Orthon, Caleb, Erubiel y Héctor.

Al Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación por permitirme trabajar en sus instalaciones y poder concluir mi investigación.

Al Centro de Investigación en Biotecnología por permitirme ser parte de tan distinguida institución.

A mi centro de adscripción la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero.

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos por ser una noble institución la cual me ha permitido superarme académicamente.

Al Centro de Investigación Biomédica del Sur, por recibirme y ser parte importante en mi desarrollo académico.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	5
La familia Poaceae	5
El sorgo	6
Clasificación taxonómica del sorgo	7
Plagas del sorgo	8
<i>Melanaphis sacchari</i> , pulgón de la caña de azúcar	9
Clasificación taxonómica de <i>Melanaphis sacchari</i>	10
Hospedantes	10
Daños a los cultivos de sorgo	11
Control químico.....	15
Enemigos naturales	18
Insecticidas botánicos.....	18
Los metabolitos secundarios.....	19
La familia Sapindaceae.....	20
<i>Dodonaea viscosa</i> Jacq. (Sapindaceae).....	21
Clasificación taxonómica de <i>Dodonaea viscosa</i>	22
<i>Ricinus communis</i> L. (Euphorbiaceae).....	24
Clasificación taxonómica <i>Ricinus communis</i>	25
<i>Serjania schiedeana</i> Schltdl (Sapindaceae)	28
Clasificación taxonómica de <i>Serjania schiedeana</i>	29
Fundamento de los bioensayos de contacto	31
Fundamento de los bioensayos en dieta artificial	31
JUSTIFICACIÓN	32
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	33

HIPÓTESIS.....	33
OBJETIVO GENERAL	34
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
MATERIALES Y REACTIVOS	35
General.....	35
Identificación taxonómica de <i>Melanaphis sacchari</i>	35
Establecimiento del pie de cría de <i>M. sacchari</i> en plantas de sorgo variedad M550.	37
Colecta de las especies vegetales	37
MÉTODOS.....	38
Obtención de extractos de las especies vegetales.....	38
Fraccionamiento químico de extracto metanólico de <i>D. viscosa</i> y aislamiento de la rutina.....	38
Análisis de Cromatografía de Alta Resolución (HPLC).....	39
Fraccionamiento químico de extracto hexánico de <i>Ricinus communis</i> y purificación de ácido mirístico y ácido esteárico.....	40
Identificación de proantocianidinas por HPLC en una fracción acuosa de <i>Serjania schiedeana</i>	41
Caracterización fitoquímica en <i>D. viscosa</i> y <i>S. schiedeana</i>	42
Actividad afidicida en bioensayos de contacto	44
Actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial.....	45
Estadística	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
Rendimientos de los extractos vegetales	47
<i>Dodonaea viscosa</i>	48
Actividad afidicida en bioensayos de contacto	48
Actividad afidicida de bioensayos en dieta artificial.....	49
Perfil fitoquímico cualitativo del extracto de metanol de <i>Dodonaea viscosa</i>	50

Evaluación de fracciones del extracto metanólico de <i>D. viscosa</i>	53
Obtención e identificación de rutina	54
Actividad afidicida de rutina en bioensayo en dieta artificial	56
<i>Ricinus communis</i>	57
Actividad afidicida en bioensayos de contacto	57
Actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial	70
<i>Serjania schiedeana</i>	72
Actividad afidicida en bioensayos de contacto	72
Actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial	74
CONCLUSIONES	83
PERSPECTIVAS	85
REFERENCIAS	86

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue la purificación e identificación de al menos un compuesto con actividad afidicida de alguna de las tres especies medicinales *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana*. Las hojas de *Dodonaea viscosa* se extrajeron con metanol y al ser evaluada la actividad afidicida contra *Melanaphis sacchari* mostró un efecto del 64% en un bioensayo en dieta artificial (BDA) a 10,000 ppm en 72 h. Este extracto metanólico se separó por cromatografía en columna abierta, de la cual se obtuvo una fracción DvF3 con contenido de flavonoides (de acuerdo a la CCF), que presentó una actividad afidicida del 70% contra *M. sacchari* a 10,000 ppm en tres días en el BDA. De DvF3 se aisló y caracterizó un flavonol conocido como rutina, este compuesto presentó actividad afidicida del 68% a 10,000 ppm en 72 h.

Por otro lado, el extracto de *n*-hexano de hojas de *Ricinus communis*, exhibió un efecto afidicida potente del 96% contra *Melanaphis sacchari* a 10,000 ppm, en 72 h en un bioensayo de contacto (BC). El fraccionamiento del extracto de *n*-hexano de hojas dio origen a una fracción RcF3, que presentó un efecto afidicida del 90% a 10,000 ppm en 72 h, en un BC. Los principales compuestos de esta fracción eran los ácidos mirístico y esteárico. La tercera especie en estudio es *Serjania schiedeana*, que se extrajo sus tallos con metanol y una fracción acuosa obtenida de este extracto mostró una actividad afidicida importante en un BDA del 84% a 10,000 ppm a los tres días. Un análisis por CCF y HPLC de esta fracción reveló la presencia de proantocianidinas como compuestos mayoritarios. El control positivo imidacloprid utilizado en todos los bioensayos presentó un 100% de mortalidad a



10,000 ppm a las 24 h. Estos resultados demuestran que las tres especies vegetales en estudio, cuentan con un efecto afidicida importante y podríamos sugerir sean consideradas en el control integrado de plagas.



INTRODUCCIÓN

El pulgón de la caña de azúcar *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae) es un insecto plaga originario de África. Actualmente, se encuentra distribuido a nivel mundial, teniendo preferencia por el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) (Harris-Shultz *et al.*, 2017).

En 1970, *M. sacchari* ingresó a los Estados Unidos como una plaga de la caña de azúcar (Schenck y Lehrer, 2000). En 2013 se encontraron brotes de este insecto en cultivos de sorgo, lo que causó pérdidas económicas en América del Norte (Armstrong *et al.*, 2015). Alrededor de 20 estados de USA y los estados productores de sorgo en México han sufrido daños graves desde la aparición de la plaga en 2013 (Bowling *et al.*, 2016, Harris-Shultz *et al.*, 2017). De acuerdo con Nibouche *et al.* (2018) el cambio de huésped de la caña de azúcar al sorgo se debió a la llegada de un nuevo biotipo de pulgón especializado en sorgo. En México, este ingresó en 2013, provocando pérdidas del 30 al 100% en la producción del sorgo (Huerta-Rodríguez *et al.*, 2018). *Melanaphis sacchari* se alimenta de la savia de la hoja y tallo del sorgo, siendo vector importante del virus de la hoja amarilla de la caña de azúcar (sugarcane yellow leaf virus). Otro daño importante a la planta es la presencia de fumagina (*Capnodium* spp.) que interviene en la eficacia de la fotosíntesis (Perales-Rosas *et al.*, 2017).

El control biológico de plagas como depredadores y parasitoides es una alternativa en estos casos. Sin embargo éstos no son tan eficaces cuando las poblaciones de *M. sacchari* son abundantes (Singh *et al.*, 2004). Los insecticidas neonicotinoides generalmente se usan para el control de *M. sacchari* (Tejeda-Reyes *et al.*, 2017). El uso indiscriminado de insecticidas afecta negativamente la biodiversidad, como el



colapso de colonias de abejas (Medrzycki *et al.*, 2003). Tales efectos nocivos han llevado a una creciente controversia sobre el uso de insecticidas (Ramos-López *et al.*, 2014). Considerando estos problemas es importante buscar nuevas alternativas para este control biológico. Las plantas con potencial bioinsecticida son un componente importante en el manejo integrado de plagas (Ansante *et al.*, 2017). Desde que las plantas aparecieron en la tierra, han desarrollado defensas químicas contra el ataque de insectos, denominados metabolitos secundarios. Se conocen aproximadamente 20,000 y juegan un papel importante ante situaciones adversas, como el consumo de herbívoros, ataque de microorganismos, la competencia de nutrientes, el estrés abiótico, entre otros (Sepúlveda-Jiménez, *et al.*, 2004).

Dodonaea viscosa y *Serjania schiedeana* pertenecen a la familia Sapindaceae. Los antecedentes bibliográficos reportan que *D. viscosa* presenta un efecto disuasorio frente a *Myzus persicae* y *Rhopalosiphum padi* (Díaz *et al.*, 2014). Asimismo, *S. schiedeana* no tiene reportes previos de actividad insecticida, pero ha tenido reportes de actividad farmacológica (Salinas-Sánchez *et al.*, 2017). Por otra parte, de *R. communis* se ha reportado su actividad biológica contra diversos insectos, incluyendo a los áfidos (Arya *et al.*, 2015). De acuerdo a lo anterior, nuestro objetivo principal fue aislar e identificar el o los compuestos mayoritarios responsables de la actividad afidicida de tres especies vegetales.



ANTECEDENTES

La familia Poaceae

Esta familia está constituida por plantas vasculares importantes, tanto en número de especies como por su relevancia económica y ecológica. A nivel mundial esta familia ocupa el tercer lugar en cuanto a número de géneros después de la Asteraceae y la Orchidaceae, el quinto lugar por el número de especies después de las Asteraceae, las Orchidaceae, la Fabaceae y la Rubiaceae, pero ocupa el primer lugar desde el punto de vista económico. Muchas especies proporcionan alimento de forma directa a los humanos como los cereales integrales, harinas para pan, cerveza y azúcar, también son fuente importante de alimentación del ganado como la avena, centeno, sorgo y bambú, en la fabricación de papel por la presencia de celulosa, así como para la construcción de viviendas (Giraldo-Cañas, 2011). Se estima que la familia Poaceae está representada en el mundo por 651 géneros y cerca de 10,000 especies (Ortiz *et al.*, 2010).

En México, la familia Poaceae ocupa el tercer lugar en cuanto a número de especies de plantas superiores, existen 197 géneros y 1127 especies quienes ocupan aproximadamente el 4.5% del total de la flora del país. Éstas representan un grupo ampliamente adaptado a diferentes ambientes, como la tundra ártica, bosques templados y cálidos húmedos, zonas áridas y semi áridas y hasta hábitats acuáticos y marinos (Valdés Reyna y Dávila, 1995). La extensa distribución de estas plantas se debe a la morfología de sus semillas y que favorece su dispersión, su alta reproductividad y su elevada resistencia a situaciones adversas como la sequía (Aguado-Santacruz *et al.*, 2004).



Entre las especies importantes que se cultivan en nuestro país están: el maíz, trigo, arroz, y sorgo. Aproximadamente 300 especies se comportan como maleza ya sean nativas o introducidas (Ortiz *et al.*, 2010). Particularmente en México, esta familia se utiliza para la elaboración de enseres domésticos y artesanías, en la fabricación de canastos, escobas y adornos, también como especies ornamentales en los hogares (Herrera y Cortés, 2009).

El estado de Morelos cuenta con 226 especies y ocupa el lugar 20º en diversidad de Poaceae nativas e introducidas y no cuenta con ninguna especie endémica, más bien los comparte con estados circundantes. En el estado existen áreas naturales protegidas como la Reserva de la Biósfera Sierra de Huautla donde se registraron 31 géneros y 66 especies de la familia Poaceae. En el corredor biológico del Chichinautzin se encuentran aproximadamente 38 géneros y 75 especies de gramíneas nativas (Sánchez-Ken y Cerros-Tlatilpa, 2016).

El sorgo

Una planta perteneciente a la familia Poaceae es el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) (Fig.1), que es un cultivo muy antiguo e históricamente uno de los cereales de mayor importancia a nivel mundial. Existen muchas variedades y se clasifican en cuatro grupos: de grano, forrajero, dulce y de alta biomasa. El sorgo de grano se utiliza principalmente para alimento para humanos y animales domésticos, el forrajero como alimento para ganado, el sorgo dulce para la producción de azúcar y jarabe y el de alta biomasa para la producción de etanol (Chuck-Hernández *et al.*, 2011).

El sorgo es originario de África, del que existen 20 especies, tiene la capacidad de adaptarse en áreas áridas o semiáridas cálidas, además es resistente a las



inundaciones, mide aproximadamente de uno a tres metros. Es el quinto cereal más importante a nivel mundial y se cultiva en 99 países (Bueno *et al.*, 2009). El sorgo pertenece a las plantas llamadas C4, debido a que forman compuestos de cuatro carbonos, haciéndolas más eficaces en el uso del agua, CO₂ y nutrientes; podría decirse que esta planta cuenta con un futuro importante debido a la falta de agua en el planeta y a los elevados índices de CO₂ en el ambiente (Chuck-Hernández *et al.*, 2011).

Clasificación taxonómica del sorgo

Reino: Plantae

SubReino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Commelinidae

Grupo: Glumiflora

Orden: Poales

Familia: Poaceae

Subfamilia: Panicoideae

Tribu: Andropogonea

Género: *Sorghum*

Especie: *S. bicolor*



Figura 1. Cultivo de sorgo, Tenango, Morelos, México

Entre el año 2016-2017 el 73% de la producción mundial de sorgo se concentró en 8 países: Estados Unidos con el 18% del total; Nigeria y México con un 10% cada uno, Sudan e India con un 9% del total mundial y con menores participaciones Etiopía, Argentina y China. México ocupa el segundo lugar de producción de sorgo



a nivel mundial, con 6.5 millones de toneladas anuales durante este periodo (FINA, 2016). Se cultiva en todas las entidades federativas de la República Mexicana, el estado de Tamaulipas es el primer productor con 3, 360,845.78 Ton; en Morelos se obtuvieron 187, 566.32 Ton en 2014 (SAGARPA-SIAP, 2014).

Plagas del sorgo

Este cultivo es muy propenso al ataque de diversas plagas, se han reportado 150 especies de plagas de insectos, 100 de las cuales están en África. El sorgo es un cultivo muy llamativo para los insectos, ya que contiene azúcar tanto en el follaje como en el grano (Delgado-Ramírez *et al.*, 2016). Una de ellas es el gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), siendo la larva que ocasiona el mayor daño, se alimenta desde el cogollo hasta llegar a las hojas formando ventanillas. Otra plaga muy agresiva del sorgo es el gusano soldado *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), que puede llegar a defoliar a toda la planta, se alimenta de las hojas inferiores y avanza hasta las superiores y causa un daño severo ya que se alimenta por las noches. El gusano trozador *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae) es otra plaga que se instala cerca de la base de la planta, su actividad es en la puesta del sol y en la noche, trozando la base o tallo hasta mostrar un secamiento gradual. Las larvas del gusano saltarín, *Elasmopalpus lignosellus* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), taladran los tallos por debajo del nivel del suelo y barrenan hacia arriba, ocasionando la muerte de la planta. La larva de la mosca enana o midge *Contarinia sorghicola* Coquillett (Diptera: Cecidomyiidae), la larva se alimenta succionando la sabia de la base del ovario, evitando su formación, además, evita que se forme el grano relacionándose con la esterilidad. La gallina ciega *Phyllophaga spp.* (Coleoptera:



Scarabaeidae) es una plaga común del maíz pero puede llegar a afectar también al sorgo, se alimenta de las raíces de la planta ocasionando su decaimiento (SENASICA, 2015). En los cultivos de sorgo podemos encontrar también distintas especies de áfidos que son importantes vectores de virus como: *Rhopalosiphum maidis* Fich (Hemiptera: Aphididae), *Sipha Flava* Forbes (Hemiptera: Aphididae), *Schizaphis graminum* Rondani (Hemiptera: Aphididae), *Rhopalosiphum padi* Linneus (Hemiptera: Aphididae) y el pulgón de la caña de azúcar *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae) siendo este último sujeto de estudio en este trabajo de investigación (Villanueva *et al.*, 2014).

***Melanaphis sacchari*, pulgón de la caña de azúcar**

Una plaga invasiva y de reciente ingreso a nuestro país (2013) es el pulgón de la caña de azúcar *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae) (Fig. 2), que afecta severamente a los cultivos de sorgo (Peña-Martínez *et al.*, 2016). Este insecto es una plaga común del sorgo y la caña de azúcar de muchas áreas de África, Asia, Australia y partes de América Central y América del Sur (Singh *et al.*, 2004). En Japón se han reportado daños que ocasionaron pérdidas de las cosechas y en Sudáfrica existen reportes de pérdidas del 77% de las cosechas debido a que no se realizaron los controles necesarios (SENASICA, 2014).

Melanaphis sacchari a nivel mundial ha sido reportado en dos familias botánicas: Araceae con dos géneros y dos especies: *Arum maculatum* L. y *Caladium bicolor* (Aiton) Vent. y la Poaceae con 23 géneros, las cuales 18 de ellas se encuentran presentes en México (Peña-Martínez *et al.*, 2015). En México, esta plaga fue registrada por primera vez en 2013 en las ciudades del Norte de Tamaulipas, donde afectó los cultivos de sorgo (Maya-Hernández y Rodríguez del Bosque,



2014). Morelos también sufrió severas afectaciones en sus cosechas, porque en la comunidad de Xicatlacotla en el año 2015 se reportó una pérdida de 450 a 500 hectáreas de sorgo por este pulgón y debido a esto, alrededor de 250 productores perdieron sus cosechas (Domínguez, 2015).

Clasificación taxonómica de *Melanaphis sacchari*

Clase: Insecta

Orden: Hemíptera

Familia: Afididae

Género: *Melanaphis*

Especie: *M. sacchari*

(SENASICA, 2014)



Figura 2. Adulto áptero de *Melanaphis sacchari*

Hospedantes

Los principales hospedantes de este pulgón son sorgo, avena, caña de azúcar, trigo y cebada; también podemos encontrarlo en arroz, maíz y algunos pastos, el cultivo hospedante primario con mayor superficie es sorgo, con 2, 203,639.4 ha; le sigue avena con 946,797.72 ha y caña de azúcar con 826,614.29 ha. El maíz, considerado hospedante secundario, tiene una superficie de 8, 033,197.5 ha. (SENASICA, 2014).



Daños a los cultivos de sorgo

Los daños dependen de la densidad de su población y la duración de la infestación. El sorgo puede ser invadido desde que emerge la plántula, y su principal daño ocurre en la producción final del cultivo (López-Gutiérrez *et al.*, 2016). *Melanaphis sacchari* succiona la savia de las hojas y provoca una coloración marrón, marchitamiento, disminución del contenido de nitrógeno, fósforo, potasio, azúcares, clorofila. El grano baja el contenido proteico, minerales y grasas, lo que resulta en el retraso del crecimiento y bajo rendimiento del cultivo. Además segrega sustancias azucaradas que facilitan el crecimiento de fumagina (patología de las plantas producida por el desarrollo de un hongo saprófito (*Capnodium* sp) sobre un sustrato glúcido presente en la superficie de los vegetales) (Figura 3B), disminuyendo la calidad del producto y su rendimiento (SENASICA, 2014). También puede transmitir el virus del mosaico de la caña de azúcar (SCMV) (Figura 3A) el cual pertenece al grupo de los Potyvirus, puede infectar diversos cultivos que incluyen la caña de azúcar, sorgo y maíz, causar mosaicos, clorosis y enanismo (Chaves-Bedoya y Ortiz-Rojas, 2012).



Figura 3. A) Daño viral por *M. sacchari* en la hoja de sorgo B) Presencia de fumagina en la hoja de sorgo (Fotografía: César Sotelo, Tenango Morelos).



Peña-Martínez *et al.* (2016) consideran que es importante conocer las formas y los ciclos de vida de los áfidos, para determinar como una especie causa daño a un cultivo y así supervisar y mejorar las medidas de control. El estatus taxonómico de las diferentes especies del género *Melanaphis* tiene muchas inconsistencias, y de acuerdo a la complejidad del género, se debe profundizar en su estudio taxonómico y biológico. Para la identificación de *M. sacchari* diversas investigaciones aún muestran discrepancia en cuanto a la taxonomía de las especies involucradas; Blackman *et al.* (1990) consideran a las especies como dos diferentes; para Remaudière y Remaudière, (1997) considera a las dos especies como sinónimos, Halbert *et al.* (2000) mencionan la presencia de *Melanaphis* sp. de origen oriental, respecto al ciclo de vida de este insecto la información con que se cuenta aún no es clara y proviene de estudios orientales. Nibouche *et al.* (2014) realizaron un estudio molecular de clones anholocíclicos de *M. sacchari* provenientes de 15 países y no encontraron evidencia molecular para determinar claramente entre las dos especies. Blackman y Eastop (2015) indican que hasta el momento no se ha encontrado formas sexuales en caña de azúcar, por lo que el ciclo biológico probablemente sea restringido a *M. sorgui*. Peña-Martínez *et al.* (2015) tomando en cuenta toda esta información sobre la controversia taxonómica de las especies involucradas, han preferido mantener la identidad del organismo como “complejo” *Melanaphis sacchari/sorgui*.

Actualmente ya existen estudios moleculares de secuenciación del genoma de *M. sacchari*. Para desarrollar marcadores de microsatélites, se generaron 8, 665,267 lecturas y 1,44 Gb de secuencias de nucleótidos y el 79,6% de las lecturas fueron de *M. sacchari*. Un estudio, utilizando la reacción de la cadena de la polimerasa



(PCR) con 38 marcadores de microsatélites recientemente creados y 14 microsatélites publicados, indicó que las muestras de *M. sacchari* en sorgo eran todas de un genotipo. *Melanaphis sacchari* en el sorgo al parecer se está extendiendo por todo Estados Unidos como un clon asexual (Harris-Shultz *et al.*, 2017).

También en México ya se cuenta con estudios moleculares. Salas-Marina *et al.* (2017) identificaron en muestras de Chiapas al áfido como *Melanaphis sacchari* con un 95% de similitud con la base de datos de GenBank. Esta identificación molecular da certeza de que el insecto reportado es *M. sacchari*. La secuenciación del marcador génico citocromo c oxidasa I (COI) puede ser de gran ayuda para disipar la confusión entre el complejo *M. sacchari/sorgui* (Remaudière y Remaudière 1997, Blackman y Eastop 2015, Peña-Martínez *et al.*, 2016).

Estos insectos son pequeños, miden entre 1.1-2.0 mm, cuentan con una coloración que varía de acuerdo a la planta que lo hospede (amarillo pálido, amarillo-marrón, marrón oscuro, púrpura o incluso rosado), tienen marcas en el dorso escleróticas oscuras, pueden ser alados y ápteros (Fig. 4), dependiendo las condiciones de alimento y sequía. Las hembras dan origen a generaciones aladas, estas a su vez vuelan e infestan a otros cultivos (SENASICA, 2014).





Figura 4. Ninfas y adultos ápteros de *Melanaphis sacchari* (fotografía: César Sotelo, Laboratorio II, CIByC-UAEM).

Melanaphis sacchari presenta cuatro estadios ninfales, los cuales se desarrollan en 5.4 días entre 20° a 25° C. Los ápteros tienen un periodo de vida de casi 12 días en promedio y dan origen a 46 ninfas. La forma alada tiene una longevidad de 7.5 días en promedio y origina 10.6 ninfas, por lo que una planta puede ser atacada hasta por 30,000 áfidos. La temperatura es un factor que afecta la tasa de desarrollo de *M. sacchari*, y el tiempo para llegar a la etapa adulta es relativamente muy corto, a 15°C tarda 10.9 días, a 20°C 7.3 días, a 25°C 5.2 días y 30°C 3.5 días. La temperatura óptima para su reproducción es entre 20° y 25°C. En condiciones de cautiverio pueden desarrollarse de 51 a 61 generaciones en un año. Los factores climáticos tienen relación con el crecimiento de la población. Además la temperatura favorece la dispersión, siendo que las temperaturas mayores de 35°C pueden provocar altas mortalidades y la lluvia juega un papel importante en la disminución de las poblaciones (Singh *et al.*, 2004).



Control químico

Algunos productos que se recomiendan para el control de los áfidos son Pirimicarb (en cultivos de maíz y trigo), Malathion (en arroz, avena, cebada, maíz, pastizales, pastos, sorgo y trigo), Imidacloprid (en caña de azúcar, cebada, cártamo, maíz, sorgo y trigo) y Thiametoxam (en maíz, y trigo), se recomienda aplicar en el estrato de la planta donde haya mayor población y áreas críticas (SENASICA, 2014). Los neonicotinoides son potentes insecticidas sistémicos para la protección de los cultivos contra las plagas, sus nombres comunes son: Acetamiprid, clotianidina, dinotefuran, imidacloprid, nitenpiram, tiacloprid. Éstos son estructuralmente distintos a los demás pesticidas químicos sintéticos y son selectivos, por lo que cada vez más se están reemplazando a los organofosforados y carbamatos en el control de insectos chupadores (Tomizawa y Casida, 2005).

El uso prolongado de las diferentes sustancias químicas nocivas utilizadas en los cultivos daña principalmente a los trabajadores que están expuestos en la primera línea del contacto, por lo que debemos recordar que las personas que están alrededor del cultivo también sufren graves daños a su salud (Müller *et al.*, 2005). La aplicación de plaguicidas ha contribuido a la pérdida extensiva de la biodiversidad en muchas partes del mundo. El uso de insecticidas químicos sintéticos está asociado con el daño ambiental, cuyo objetivo específico es reducir plagas y por consecuencia su uso afecta a organismos que no son su objetivo, por ejemplo recicladores de nutrientes del suelo, polinizadores de plantas y depredadores de plagas (Devine *et al.*, 2008). También pueden contaminar el aire, el agua, la biota, sedimentos y suelos, y finalmente incorporarse a la cadena alimenticia. El uso de los pesticidas ha producido daños a los ecosistemas como la



resistencia de plagas hacia los productos y se forma dependencia hacia ellos (Escobar-Castillejos *et al.*, 2011).

Al estudiar a los plaguicidas, es importante reconocer dos características: muchos de ellos son persistentes, quiere decir que no se descomponen en otras partes constitutivas, sino que permanecen intactos durante periodos prolongados y fácilmente accesibles para el cuerpo humano. Investigaciones toxicológicas han demostrado una serie infinita de problemas en la salud como cambios moleculares, celulares, en los tejidos y órganos. Como consecuencia de ellos, la exposición de agroquímicos causa problemas reproductivos, endócrinos, en el sistema inmune, cáncer (leucemia, cerebro, riñón, próstata, hígado, pulmón y piel); las mujeres embarazadas o previo al embarazo y que tienen una exposición frecuente con pesticidas presentan altas probabilidades de padecer algún tipo de alteración en el feto (Gilden *et al.*, 2009).

Peres *et al.* (2007) documentan que la exposición de pesticidas en el humano provoca alteraciones en el sistema nervioso, se acumulan en células adiposas y persisten por más de 30 años en el organismo del individuo. Existe una relación entre la exposición de pesticidas y el desarrollo a ciertos tipos de cáncer, tales como el de pulmón, de tórax, de estómago, pancreático y de próstata.

Los contaminantes ambientales contribuyen a la infertilidad tanto en el hombre como en la mujer. Los vendedores, consumidores y agricultores están más expuestos a sus efectos negativos, por lo cual estas ocupaciones tienen un impacto adverso en la reproducción humana. Estudios indican que la calidad del semen en el humano ha disminuido a través del tiempo, siendo asociado con la exposición laboral a los plaguicidas. Los pesticidas organofosforados ingresan al organismo



por vía cutánea, respiratoria o digestiva, siendo la cutánea la forma más frecuente de intoxicación (Yucra *et al.*, 2008).

En México, no se les ha dado la importancia debida a los problemas ocasionados por los plaguicidas, debido a que no existen datos suficientes y confiables. El gobierno no lo considera como un problema prioritario, no se le asigna presupuesto para el control, ni existen políticas públicas al respecto y los investigadores no cuentan con recursos para dedicar tiempo a realizar investigaciones para este problema (Albert, 2005). En sí, se cuenta con distintas estrategias para el control de las plagas en los cultivos agrícolas como los enemigos naturales, entre ellos están los insectos depredadores que se alimentan de los áfidos. Estos pueden ser categorizados como depredadores o parasitoides y generalistas o especialistas. Los depredadores matan a su presa de forma inmediata, muchos de ellos son generalistas, esto significa que comen especies diferentes, los insectos depredadores mantienen poblaciones pobres de áfidos lo que puede ayudar a reducir la aplicación de controles químicos. Algunos depredadores son *Ceraeochrysa spp.* y *Chrysoperla spp.* (Neuroptera: Chrysopidae) y especies de sírfidos (Diptera: Syrphidae), *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae). Los parasitoides del género *Aphidius* (Hymenoptera: Braconidae) y *Aphelinus* (Hymenoptera: Braconidae) depositan sus huevos dentro de sus presas provocando la muerte, siendo que la mayoría de ellos son especialistas (Patterson y Ramírez, 2016). El uso de hongos entomatógenos representa otra alternativa dentro de las estrategias contra los pulgones, de los más importantes están los *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Gams & Zare y *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith. (Hernández-Torres, 2006).



Enemigos naturales

Se han reportado más de 47 especies de enemigos naturales de *M. sacchari* en todo el mundo, aunque éstos no evitan en su totalidad la acumulación de áfidos en los cultivos. Los enemigos naturales tienen un papel muy importante ya que ellos mantienen las poblaciones bajas de estos insectos. Diferentes países han reportado enemigos naturales de *M. sacchari*; Hall (1987) encontró que el hongo *Verticillium lecanii* (Zimm.) es un importante agente de control biológico en los EE.UU. También se han reportado parasitoides, Zimmerman (1948) indica que *Aphelinus maidis* parasita a los áfidos en Hawaii; similarmente Gilstrap (1980) reporta a *Enrischia comperei* Ashm como un parasitoide del pulgón amarillo.

Insecticidas botánicos

Ante tal panorama, es necesario buscar otras alternativas que permitan contrarrestar los efectos negativos de los plaguicidas químicos sintéticos, como la utilización de insecticidas botánicos que sean capaces de combatir plagas y a la vez amigables con el medio ambiente y la salud de los seres vivos. Las plantas han servido desde hace mucho tiempo como alimento, medicina, vivienda y vestido (Celis *et al.*, 2008). Durante siglos la humanidad ha dependido de las plantas como fuente alimenticia y refugio, además que contienen una gran variedad de metabolitos secundarios que se utilizan como productos farmacéuticos, agroquímicos, sabores y fragancias, aditivos para alimentos y bioplaguicidas (Ramachandra y Ravishankar, 2002).



Los metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular, que además de tener importancia ecológica también participan en los procesos de adaptación de la planta en su ambiente, como la simbiosis con otros organismos, la atracción de polinizadores y dispersores de semillas. Éstos son inducidos cuando la planta está expuesta a condiciones adversas, tales como: el consumo de herbívoros, el ataque de microorganismos y competencia por el espacio con otras especies, existen aproximadamente existen 20,000 estructuras de metabolitos secundarios, y se clasifican según su estructura química en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados (Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003).

Estudiar los compuestos que están presentes en las plantas ofrece una alternativa para descubrir nuevos y eficientes insecticidas para controlar las plagas. Éstos pueden ser tolerados por los cultivos y no causar daño al consumidor. Muchos de estos compuestos con capacidad insecticida juegan un papel importante en los mecanismos de defensa de las plantas, derivado del el metabolismo primario de las plantas se pueden se sintetizan compuestos secundarios quienes tienen diferentes funciones biológicas. Las mayores concentraciones de metabolitos secundarios se pueden encontrar en hojas, raíces, flores, frutos y semillas. Los metabolitos secundarios de las plantas pueden afectar el desarrollo normal de los insectos como: reguladores del crecimiento, inhibidores de la alimentación y repelentes (Vázquez-Luna *et al.*, 2007).

Los flavonoides son un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos, que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal en forma de glicósidos y



también pueden ser utilizados como insecticidas vegetales. Son pigmentos naturales presentes en los vegetales y tienen una función de atrayentes de animales para la ovoposición, como agentes protectores contra Rayos UV y contra las infecciones de organismos fitopatógenos (Cartaya y Reynaldo, 2001).

Los fenoles actúan como antialimentarios por el sabor amargo; los terpenos provocan repelencia, inapetencia y evitan la ovoposición; los alcaloides confieren una gran variedad de efectos tóxicos; los compuestos azufrados tienen acción insecticida y nematocida entre otros. Estos productos pueden manifestarse de diversas maneras incluyendo la toxicidad, la mortalidad, inhibición del crecimiento, la supresión de comportamiento reproductivo, reducen la fertilidad y la fecundidad. Estos productos naturales son efectivos contra las plagas agrícolas, biodegradables, menos costosos y más seguros que sus equivalentes sintéticos, su importancia reside en mitigar la contaminación ambiental que producen los plaguicidas químicos sintéticos. El uso de bioplaguicidas estimula la modernización de la agricultura y sin duda en un futuro reemplazará la utilización de estos productos dañinos de la producción agrícola (Nava-Pérez *et al.*, 2012).

La familia Sapindaceae

Dodonaea viscosa y *Serjania schiedeana* forman parte de ésta familia. Las sapindáceas son de distribución tropical y subtropical y están formada por 150 géneros y contienen cerca de 2,000 especies algunas son leñosas y otras forman lianas, usualmente de forma arbórea o grandes arbustos (Laguna y Sánchez, 2009).



***Dodonaea viscosa* Jacq. (Sapindaceae)**

Dodonaea viscosa (Fig. 5) es un arbusto leñoso resistente y flexible que crece en la mayor parte de México y en diversos tipos de suelos. Se puede observar en zonas tropicales, subtropicales y climas templados. Esta planta puede ser encontrada en cauces, barrancas, ríos, pastizales deteriorados, espacios de pastoreo, cultivos abandonados, espacios rurales y zonas erosionadas (Ramírez-Dávila *et al.*, 2008).

Dodonaea viscosa es de origen australiano, pero se encuentra ampliamente distribuida en África, México, Nueva Zelanda, América del Sur y otros lugares. Esta planta tiene muchas propiedades medicinales y en diferentes países se ha utilizado para tratar el dolor de garganta, resfriados, fiebre, malaria, reumas, antiespasmódico, analgésico, dolores de muelas y de cabeza, esguinces, quemaduras, úlceras, diarrea y estreñimiento, ya sea por vía oral o cutánea. Estas propiedades son debido a la presencia de distintos compuestos químicos como los di y triterpenos, saponinas, flavonoides, y una mezcla compleja de otros compuestos fenólicos (Sandhya *et al.*, 2009, Pengelly, 2008).



Clasificación taxonómica de *Dodonaea viscosa*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotiledónea/Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Sapindaceae

Género: *Dodonaea*

Especie: *viscosa*

Nombre Científico: *Dodonaea viscosa* (L.)
Jacq.

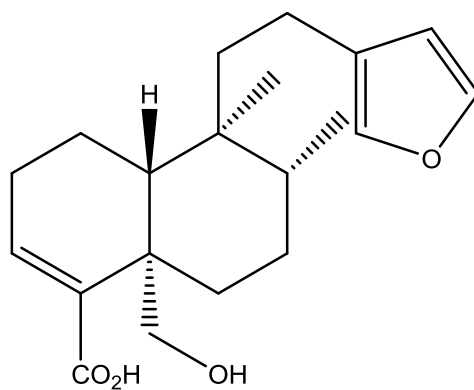
(Lawal y Yunusa, 2013)



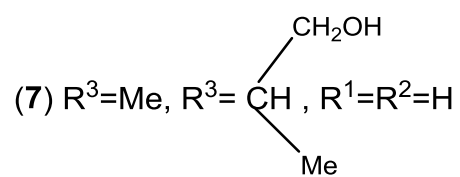
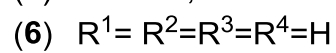
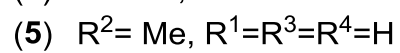
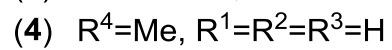
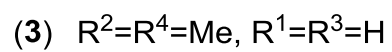
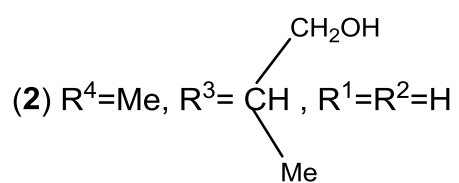
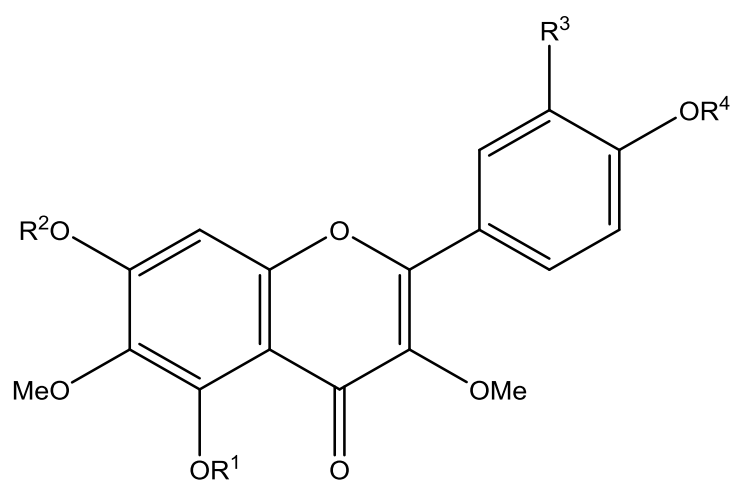
Figura 5. *Dodonaea viscosa*

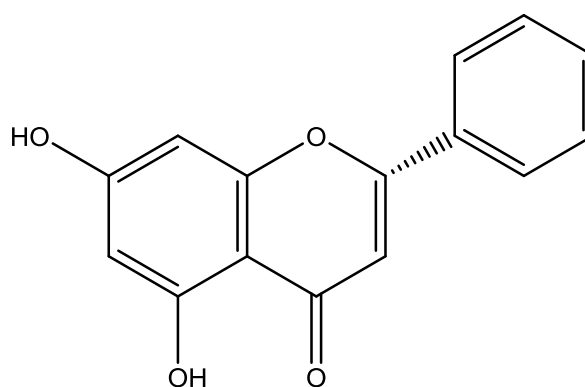
Estudios previos indican que *D. viscosa* contiene metabolitos secundarios del tipo flavonoide y terpenoide. Hsü y Chen (1971) aislaron de las hojas de *D. viscosa* un diterpeno llamado ácido hautriwaico (1). Sachdev y Kulshreshtha (1983) reportaron la presencia de un flavonoide el cual tiene una cadena isoprenoide (2), purificado de una fracción de cloroformo del extracto alcohólico de *D. viscosa*. Además se aislaron seis flavonoides conocidos 5-hidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxi-flavona (3), santina (4), penduletina (5), 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona (6), 5,7,4'-trihidroxi-3'(3-hidroximetilbutil)-3,6- dimetoxiflavona aliarina (7) y 5,7-dihidroxiflavanona (pinoembrina) (8).





(1)





(8)

***Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae)**

Una planta de gran interés es *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) llamada comúnmente higuera (Fig. 6), es originaria de África, aunque algunos autores sugieren que puede proceder de India o China. Worbs *et al.* (2011) mencionan que la planta fue utilizada en el antiguo Egipto, por los romanos y los griegos. Actualmente se encuentra ampliamente distribuida y adaptada a nivel mundial y cuenta con muchos usos, como industriales, ornamentales y medicinales. Se ha utilizado por muchos años para el tratamiento de la inflamación, trastornos del hígado, hipoglucemia, como laxante entre otros (Rana *et al.*, 2012).



Clasificación taxonómica *Ricinus communis*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Ricinus*

Especie: *R. communis*

(Cronquist, 1981)



Figura 6. *Ricinus communis*

Esta planta crece en áreas tropicales y subtropicales es de rápido desarrollo y hasta puede llegar a forma árboles de hasta seis metros o más de altura, se cultiva para la producción de aceite en diversas partes del mundo, sus hojas son de color verde o rojizo de entre 30-60 cm de diámetro, contienen lóbulos con segmentos dentados, los tallos son de coloración variada, las flores son monoicas y miden aproximadamente entre 30-60 cm, la fruta es una cápsula espinosa de tres celdas, las semillas son diferentes en tamaño y color, son ovaladas y miden de entre 8-18 mm de largo y 4-12 mm de ancho (Fig. 7) (Jena y Kumar, 2012).





Figura 7. Frutos, hojas y semillas de *Ricinus communis* (Jena y Kumar, 2012).

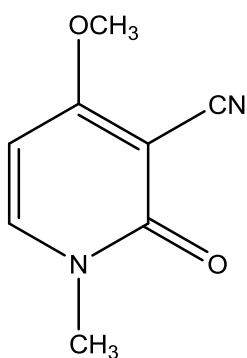
Diversos estudios de esta especie vegetal han demostrado la actividad antidiabética, antimicrobiana, antifúngica, insecticida, analgésica, repelente, antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, lipolítica, antiulcerosa, antiasmática, cicatrizador de heridas, hepatoprotectora, antiestaminica, larvicida y regeneradora de huesos (Rana *et al.*, 2012, Otiano y Roldán, 2014, Jena y Kumar, 2012).

El aceite de ricino es extraído de la semilla de la planta y se utiliza de forma tradicional y como hierbas para medicina, la semilla se utiliza como fertilizante después de haber eliminado la toxina e incorporarlo como alimento para animales, el uso principal del aceite de ricino es como purgante y laxante ya que actúa irritando la mucosa del intestino delgado provocando una estimulación del peristaltismo intestinal en contacto con la lipasa pancreática, el ácido ricinoleico se libera de sus glicéridos y disuelve los constituyentes lipídicos de la membrana intestinal, produciéndose un incremento del peristaltismo que tiene como resultado una abundante evacuación de heces líquidas, además es como lubricante, combustible, cosmético, de esta planta se fabrican jabones, tinta de imprenta, plásticos, fibras, líquido de frenos, barnices; en la India lo utilizan para alimentar a los gusanos de seda (Jena y Kumar, 2012).



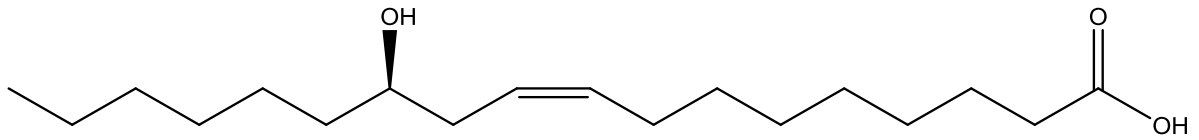
Ricinus communis ha generado numerosas investigaciones relacionadas con su actividad biológica tanto de extractos como de compuestos aislados. Estudios fitoquímicos han demostrado que cuenta con una diversidad de compuestos, se han aislados 83 productos naturales de diversas partes de la planta, las cuales incluyen: alcaloides, terpenoides, flavonoides, derivados del ácido benzoico, cumarinas, tocofenoles y ácidos grasos (Ribeiro *et al.*, 2016).

Estudios previos indican que *R. communis* contiene metabolitos secundarios del tipo alcaloide. El-Naggar *et al.*, (2018) aislaron de las hojas de *R. communis* al principal alcaloide llamado ricinina (**9**). También se han identificado ácidos grasos. Sturtevant *et al.*, (2019) identificaron al ácido ricinoleico como el principal ácido graso de las semillas de *R. communis* (**10**). Sing *et al.*, (2009) aislaron de las partes aéreas de *R. communis* a un flavonoide denominado quercetina (**11**).

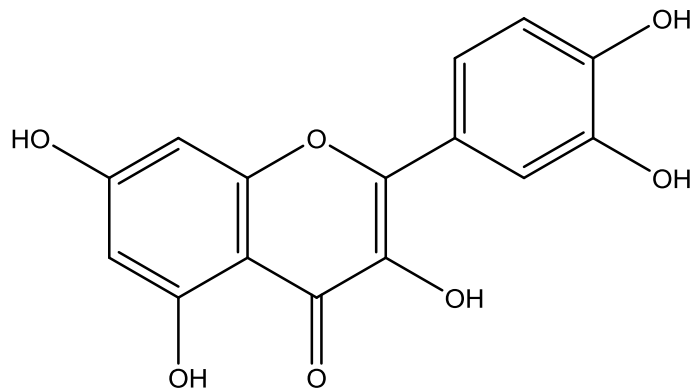


(9)





(10)



(11)

***Serjania schiedeana* Schltidl (Sapindaceae)**

Serjania schiedeana Schltidl conocida como “Bejuco de tres costillas”, suele utilizarse por los pobladores de la REBIOSH para el ardor de los pies, disminuir el dolor de cintura y espalda, curar heridas y golpes, así como para la inflamación de los riñones (Maldonado, 1997; Maldonado *et al.*, 2004). Reportes de plantas del género *Serjania* son utilizadas en la medicina tradicional Mexicana para el tratamiento de diversos padecimientos, La especie *Serjania racemosa* Schum



conocida popularmente como “vara de tres costillas”, se recomienda en forma de infusión para purificar la sangre y desinflamar los riñones (Monroy y Castillo, 2007).

Serjania schiedeana (Fig. 8) es una especie vegetal que se caracteriza por sus tallos obtusamente triquetros, densamente tomentosos con tricomas amarillentos a blanquecinos y sus hojas 5-folioladas, similar a *S. triquetra*, también presente en la REBIOSH, pero ésta con 9 folíolos. Sus flores miden alrededor de 5-6 mm de largo y están dispuestas en tirso axilares o terminales, con cinco sépalos y cuatro pétalos. Fruto de alrededor de 2-3 cm de largo, densamente pubescente. Esta especie se distribuye en Morelos principalmente en selva baja caducifolia (Miranda y Hernández 1963).

Clasificación taxonómica de *Serjania schiedeana*

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Sapindaceae

Género: *Serjania*

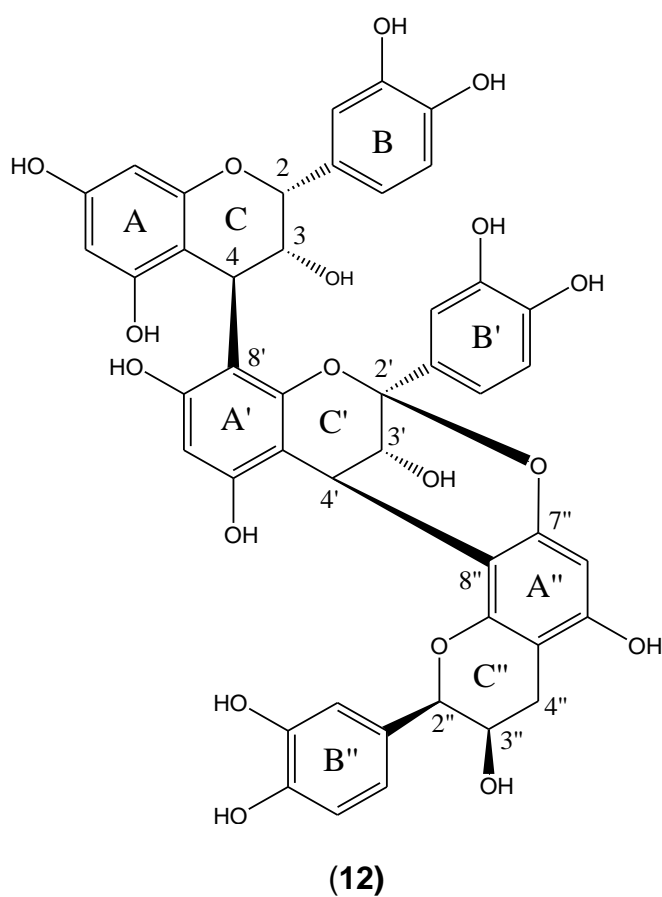
Especie: *S. schiedeana*



Figura 8. *Serjania schiedeana*



En la literatura reciente no se ha reportado el efecto insecticida de *Serjania schiedeana*, pero si cuenta con reportes del efecto anti-inflamatorio y anti-artrítico de una fracción que contiene una proantocianidina (**12**) aislada de una fracción de acetato de etilo como compuesto mayoritario, obtenida de esta especie vegetal (Salinas-Sánchez *et al.*, 2017).



Fundamento de los bioensayos de contacto

Las pruebas de contacto son muy utilizadas en la mayoría de las investigaciones, se basa en asperjar directamente sobre el cuerpo del insecto soluciones en diferentes concentraciones, utilizando diferentes medios como aerógrafos, atomizadores o aplicando directamente con micropipetas, los bioensayos *in vitro* suelen montarse sobre cajas de Petri, colocando secciones de hojas de la especie vegetal en estudio que les servirá de alimento al áfido, generalmente, se colocan discos de papel filtro impregnados con agua para evitar que la hoja se seque (Arya *et al.*, 2014, Ateyyat y Abu-Darwish, 2009, Pavela *et al.*, 2009).

Fundamento de los bioensayos en dieta artificial

Para esta prueba se utiliza una dieta que contiene 30% de sacarosa y agua embotellada, se complementó con 4.4 mL por L de formalina al 10% y 7.3 mL por L de 15% de cloruro de colina para prevenir el crecimiento de hongos y bacterias en la dieta (Toledo-Hernández *et al.*, 2018). La cámara de alimentación utilizada en este estudio fue la misma reportada por Torres-Quintero *et al.*, (2013) y se diseñó a partir de dos copas de plástico desechables translúcidas de 40 mm de diámetro x 20 mm de alto.



JUSTIFICACIÓN

El sorgo representa una fuente importante de alimentación para el ganado, es resistente a la sequía y proporciona casi los mismos nutrientes que el maíz, sin embargo las plagas son un peligro constante para este cultivo, en especial el pulgón de la caña de azúcar quien ha provocado daños importantes y ha causado severas afectaciones en los cultivos de sorgo en Estados Unidos y México, desde su aparición en el año 2013. La opción más eficaz para el control de este áfido, es la aplicación de insecticidas químicos sintéticos como el imidacloprid, pero estos productos son cada vez más cuestionados por los efectos adversos en la salud de los humanos, como: daños en el sistema nervioso, desarrollo de ciertos tipos de cáncer, infertilidad, entre otros padecimientos. Además, se ha comprobado que estos productos químicos, también causan daños ambientales como la contaminación de ríos, suelo y aire, afectando a organismos benéficos, como depredadores, parasitoides y polinizadores. No obstante, los pesticidas químicos han jugado un rol importante en el control de los insectos plaga, beneficiando el incremento de la producción agrícola. El uso de insecticidas botánicos, representa una opción ante la aplicación frecuente de insecticidas tóxicos de origen sintético, los metabolitos secundarios aislados de las plantas son importantes en el combate contra las plagas, son biodegradables y a la vez amigables con el medio ambiente y la salud de los seres vivos, causando efectos mínimos en la fauna benéfica. Por tal motivo, es necesario la búsqueda de compuestos naturales que sean amigables con el medio ambiente derivados de *D. viscosa*, *R. communis* y *S. schiedeana* que cuenten con actividad afidicida contra el pulgón de la caña de azúcar (*M. sacchari*),



y en un futuro estas sustancias puedan ser consideradas como una opción en el manejo agroecológico de plagas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los extractos y/o compuestos de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* tendrán actividad afidicida frente a *Melanaphis sacchari* *in vitro*?

HIPÓTESIS

Debido a que plantas de la familia Sapindaceae han presentado propiedades insecticidas, *Dodonaea viscosa* y *Serjania schiedeana*, poseen metabolitos secundarios que aislados o en conjunto tienen un efecto afidicida frente a *Melanaphis sacchari* en modelos *in vitro*.

Ricinus communis es una especie vegetal que cuenta con diversos efectos biológicos, incluido el insecticida, por lo cual productos naturales aislados o en grupo actúan favorablemente como afidicida contra *Melanaphis sacchari* en modelos *in vitro*.



OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto afidicida de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* a nivel de extracto, fracciones y un compuesto aislado frente a *Melanaphis sacchari* en modelos *in vitro*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto afidicida de extractos y fracciones de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* utilizando el modelo de contacto *in vitro* contra *Melanaphis sacchari*.
- Evaluar el efecto afidicida de extractos y fracciones de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana* utilizando el modelo en dieta artificial *in vitro* contra *Melanaphis sacchari*.
- Realizar un fraccionamiento químico-biodirigido del extracto que presente mayor efecto afidicida.
- Elucidar estructuralmente el compuesto con actividad afidicida de alguna de las tres especies en estudio, utilizando técnicas espectroscópicas y espectrométricas.



MATERIALES Y REACTIVOS

General

Los disolventes *n*-hexano, acetona y metanol fueron adquiridos de Mallinckrodt Baker (Phillipsburg, NY, USA). Los extractos orgánicos íntegros así como sus fracciones fueron separados y analizados mediante la aplicación de métodos cromatográficos tradicionales como la cromatografía en columna (CC) y la cromatografía en capa fina (CCF) analítica. El gel de sílice 60, el gel de sílice de fase reversa (RP-18, 40-63 μm), y las placas cromatográficas se adquirieron de Merck KGaA (Darmstadt, Germany). Los reveladores utilizados fueron sulfato cérico amoniacal al 1% en H_2SO_4 2N, 2 amino etil difenil borinato (prueba para detección de flavonoides) y 4-hidroxibenzaldehído (prueba para detección de terpenos).

Identificación taxonómica de *Melanaphis sacchari*

Para confirmar que los pulgones seleccionados de cultivos de sorgo en la comunidad de Tenango Morelos, correspondían a *Melanaphis sacchari*, se realizaron preparaciones permanentes de éstos y se identificaron con la ayuda de la M. en C. Adriana G. Trejo Loyo del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-UAEM) mediante las claves taxonómicas de Blackman y Eastop, (1984) (Fig. 9). Posteriormente, para su confirmación, los pulgones fueron fotografiados con microscopio electrónico de barrido en el CEPROBI-IPN (Fig. 10).



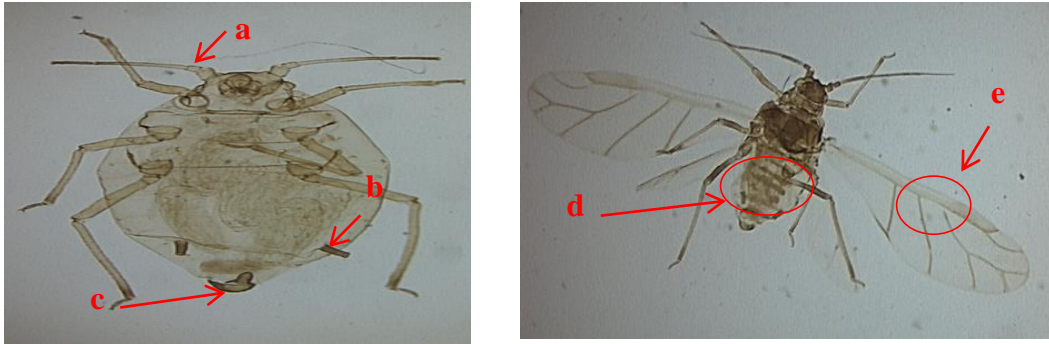


Figura 9. Preparaciones de adulto ápteros y alados de *Melanaphis sacchari* a) tubérculos de las antenas poco desarrollados, b) sifúnculos cortos, c) cauda más grande que los sifúnculos, d) machas intersegmentales distribuidas aleatoriamente en el abdomen, e) machas segmentales en las alas.

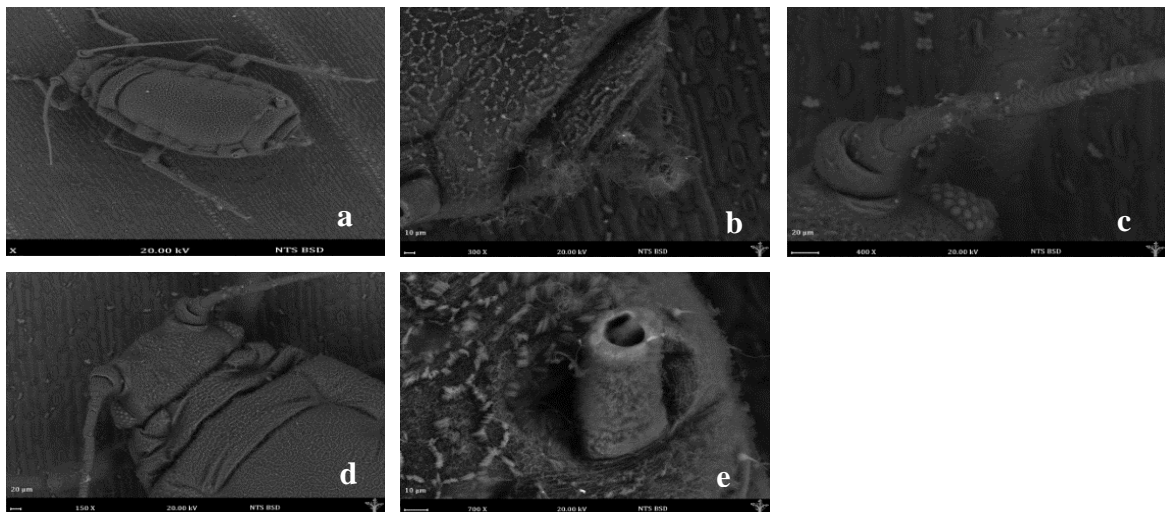


Figura 10. Microscopía electrónica de barrido de *Melanaphis sacchari* a) cuerpo completo b) cauda c) tubérculo de la antena, d) antenas e) sifúnculos.



Establecimiento del pie de cría de *M. sacchari* en plantas de sorgo variedad M550.

Los insectos se colectaron en cultivos de sorgo en la localidad de Tenango, Morelos. Hojas infestadas con pulgones fueron cortadas y colectadas en cajas de plástico de 30 x 30 cm cubierta con una malla de nailon para su transportación. Estos pulgones se colocaron en plantas de sorgo variedad M550 desarrolladas previamente en macetas de plástico en el invernadero del CIByC-UAEM, que sirvieron de alimento a los pulgones. Temperaturas entre 24-27°C dentro del invernadero en combinación con la eliminación de sus enemigos naturales (depredadores y parasitoides) permitió que el establecimiento del pie de cría de *M. sacchari* se lograra satisfactoriamente.

Colecta de las especies vegetales

Las especies vegetales *D. viscosa* y *R. communis* se colectaron en la comunidad de San Isidro, Yautepec, Morelos, y se identificaron con número de registro 34892 y 34874, respectivamente. *Serjania schiedeana* se colectó en la Reserva de la Biosfera de Huautla Morelos número de registro 23690. La identificación taxonómica fue llevada a cabo por el MC. Gabriel Flores Franco, curador del herbario HUMO-CIByC-UAEM.



MÉTODOS

Obtención de extractos de las especies vegetales.

El material vegetal se secó a la sombra a temperatura ambiente, de *D. viscosa* (hojas) y de *R. communis* (semillas, hoja, fruto y raíz). El material seco y molido, se maceraron con tres disolventes de polaridad ascendente: *n*-hexano, acetona y metanol. La extracción se realizó durante tres días por triplicado (por cada kg de planta seca se utilizarán 5 L de disolvente). El disolvente se eliminó totalmente con un rotaevaporador (Buchi 205, Flawil, Switzerland) a 45°C y a presión reducida. Los tres extractos se liofilizaron y se dejaron en refrigeración para su posterior uso.

Para obtener los extractos de tallos de *S. schiedeana* el material se secó a la sombra a temperatura ambiente durante un mes, luego los tallos se molieron con un molino (Molinos Pulvex SA de CV, México). El material vegetal seco y pulverizado se colocó con 2.5 mL de metanol por cada 500 g de material vegetal en un matraz Erlenmeyer. La extracción se realizó por triplicado por tres días, se filtró y el disolvente se destiló a presión reducida con un evaporador rotatorio. El extracto metanólico se fraccionó mediante un proceso de partición usando agua y acetato de etilo (1:1). Obteniendo una fracción acuosa y una de acetato de etilo. Las dos fracciones se secaron al vacío y se almacenó en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se congeló a -20 °C hasta su uso en los bioensayos.

Fraccionamiento químico de extracto metanólico de *D. viscosa* y aislamiento de la rutina.

El extracto metanólico de *D. viscosa* (7 g) fue fraccionado en una columna de vidrio previamente empacada con 60 g de silica gel 60, 70-230 mesh, (Merck KGaA



Darmstadt, Germany). Se utilizó un gradiente de diclorometano/metanol como fase móvil con incrementos de polaridad del 5%. Este proceso fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF), para decidir el agrupamiento de las fracciones en función de su contenido químico (DvF1-DvF4). La fracción más activa (DvF3, 1.2 g) de *D. viscosa* se sometió a un fraccionamiento cromatográfico en una columna de fase reversa con silica gel (10 g, RP-18, 40-63 μm , Merck) con agua/acetonitrilo como fase móvil (muestras de 10 mL). Obteniendo 5 sub-fracciones (DvF3A1-5). La fracción DvF3A-4, contenía una sustancia amarilla-verdosa como compuesto mayoritario, la cual produce una coloración amarilla en cromatografía en capa fina al ser tratada con reactivo NP-PEG (2-aminoetildifenil borinato), indicando la presencia de un flavonoide, el cual fue elucidado por RMN de ^1H y ^{13}C como 3-O-rutinósido de quercetina o mejor conocida como rutina: (32 mg), p.f.= 241-242 °C. Los espectros de RMN se obtuvieron en un equipo Varian Inova 400 MHz en CDCl_3 . Los desplazamientos químicos se reportan en ppm, mientras que el tetrametilsilano se utilizó como referencia interna.

Análisis de Cromatografía de Alta Resolución (HPLC)

Se utilizó HPLC para la identificación del compuesto aislado de DvF3, esto se realizó en un equipo Waters 2695, equipados con detector de matriz de fotodiodos Waters 996 y un software Empower Pro (Waters Corporation, USA). La separación química se logró utilizando una columna Discovery® C-18 (250 x 4.6 mm, 5 μm , SUPELCO). La fase móvil consistió en agua al 0.5% de ácido trifluoroacético como solvente A y acetonitrilo como solvente B. El sistema fue un gradiente como se describe a continuación: 0–1 min, 0% B; 2–3 min, 5% B, 4–20 min, 30% B; 21–23



min, 50% B; 24–25 min, 80% B; 26–27 100% B; 28–30 min, 0% A. El flujo se mantuvo a 0.9 mL/min, y el volumen de inyección de la muestra fue de 10 µL. La absorbancia se midió a 280 nm, el pico del flavonoide fue identificado por comparación directa de los tiempos de retención y espectros UV con un estándar comercial de referencia (Sigma-Aldich, USA).

Fraccionamiento químico de extracto hexánico de *Ricinus communis* y purificación de ácido mirístico y ácido esteárico.

El extracto de hoja de *n*-hexano demostró ser el más activo y se investigó más a fondo. Se fraccionaron siete gramos en una columna de vidrio previamente empaquetada con 60 g de gel de sílice de malla 70-230, (Merck KGaA Darmstadt, Alemania). Se usó un gradiente de *n*-hexano/acetato de etilo como fase móvil, comenzando con 100% de *n*-hexano y terminando con 100% del solvente de mayor polaridad. Este proceso fue monitoreado por cromatografía en capa fina y el análisis permitió obtener fracciones (F1-F7) basadas en el contenido químico y posteriormente se evaluaron en los bioensayos de contacto descritos más adelante en esta sección.

La fracción más activa (RcF3, 1.5 g) aislada del extracto de *n*-hexano de hojas de *R. communis* se sometió a un fraccionamiento cromatográfico en columna empaquetada con gel de sílice (25 g, malla 70-230, Merck). Se usó un gradiente de *n*-hexano/acetato de etilo como fase móvil, comenzando con 100% de *n*-hexano y terminando con 100% de acetato de etilo. El análisis de F3 usando CCF reveló con el reactivo Komarovsky, la presencia de dos productos principales: ácido mirístico (3.25 mg) y ácido esteárico (4.26 mg). Posteriormente, se confirmó su presencia



mediante cromatografía de gases-masas (CG-MS). Los datos del cromatógrafo de gases acoplados a masas (CG-MS) se obtuvieron utilizando un equipo Agilent Technology 6880 junto con un espectrómetro de masas. La espectrometría de masas se realizó por impacto electrónico y el equipo tiene un detector MSD y una fuente iónica Agilent 5973N a 230 °C. El sistema estaba equipado con inyección automática. La columna cromatográfica es la HP-5MS de 30 mx 0250 mm con un espesor de película de 0.25 µm. La temperatura inicial de la columna fue de 40 °C, que se incrementó a 250 °C durante 10 minutos a una velocidad de 10 °C min⁻¹, hasta alcanzar 285 °C durante 20 minutos. El flujo de gas helio fue de 1 mL / min y el tiempo total de ejecución fue de 20 minutos. La muestra diluida (10 µL del extracto en 1.0 mL de solvente) se inyectó (2 µL) en modo dividido a 250 °C, los espectros se obtuvieron a 1,918 de voltaje de ionización (e/m) con un rango de 40-450 m/z de masa analizada. Los compuestos en el extracto de *n*-hexano de hojas de *R. communis* se identificaron y autenticaron utilizando sus espectros de masas en comparación con la versión 1.7 A de la biblioteca NIST.

Identificación de proantocianidinas por HPLC en una fracción acuosa de *Serjania schiedeana*.

El análisis de la fracción acuosa se realizó en un equipo de HPLC, con las mismas condiciones mencionadas anteriormente. La absorbancia se midió a 280 nm, el pico de la proantocianidina fue identificada por comparación directa de los tiempos de retención y espectros UV con una proantocianidina previamente aislada de la misma especie vegetal (Salinas-Sánchez *et al.*, 2017).



Caracterización fitoquímica en *D. viscosa* y *S. schiedeana*

Adicionalmente, para identificar los grupos de metabolitos secundarios en los extractos de polaridad alta de *D. viscosa* y *S. schiedeana*, se utilizaron métodos fitoquímicos clásicos para observar la presencia-ausencia de alcaloides, cumarinas volátiles, flavonoides, saponinas, taninos, triterpenos y esteroides, así como derivados del antraceno (Harborne 1973; Stahl 1973; Lock, 1994; Wagner and Blatt 1996).

Los reactivos Dragendorff, Mayer y Wagner se usaron para determinar la presencia de alcaloides. La solución de Dragendorff (a) se preparó con 106 mg de nitrato de bismuto y 1.25 g de ácido tartárico disuelto en 5 ml de agua. Para la solución de yoduro de potasio (b), se disolvió 1 g de yodo en 2.5 ml de agua. Se mezclaron volúmenes iguales de 2.5 ml de soluciones frescas de preparación (a) y (b). Los alcaloides se detectaron colocando 1.5 mL del extracto de *D. viscosa* y *S. schiedeana* y 100 μ L de reactivo de Dragendorff en un tubo de ensayo. El reactivo de Mayer estaba compuesto de (a): 680 mg de cloruro mercúrico disuelto en 30 ml de agua y (b): 2.5 g de yoduro de potasio disuelto en 5 ml de agua. Ambas soluciones se combinaron y diluyeron con agua hasta 50 mL. El ensayo se realizó colocando 1.5 ml de los extractos en un tubo de ensayo y agregando 100 μ L de reactivo de Mayer por las paredes del tubo. El reactivo de Wagner se preparó utilizando 635 mg de yodo y 1 g de yoduro de potasio disuelto en 50 mL de agua. En un tubo de ensayo que contenía 1,5 mL de los extractos, se añadieron 100 μ L de reactivo de Wagner. El precipitado y el cambio de color generado por los reactivos pueden indicar alcaloides, y los colores observados pueden ser rojo a naranja o blanco a crema o marrón.



Se colocaron dos mililitros de los extractos vegetales en un tubo de ensayo para detectar cumarinas volátiles. La abertura del tubo se cubrió con papel de filtro impregnado con solución de NaOH 1N. El tubo de ensayo se colocó en un baño de agua a 100 ° C durante 10 minutos. El papel de filtro se observó bajo luz ultravioleta para determinar la presencia de fluorescencia de color amarillo indicativo de cumarinas. Para analizar los flavonoides, se colocaron 2 mL de jugo en un tubo de ensayo al que se le añadió una pequeña pieza de banda de magnesio (5 x 5 mm) y 100 µL de HCl al 36%. Un cambio de color después de 24 horas indicó flavonoides. Para determinar los taninos, se prepararon las siguientes soluciones: (a) solución de cloruro férrico al 20% preparada con 2.5 g de cloruro férrico y disuelta en 25 mL de agua destilada; (b) se obtuvo una solución de gelatina al 1% a partir de 125 mg de gelatina (Merck) disuelta en 12.5 ml de agua destilada; (c) para obtener gelatina y solución salina, se disolvieron 500 mg de gelatina y 5 g de cloruro de sodio en 50 mL de agua destilada; (d) La solución salina al 10% consistía en 1.25 g de cloruro de sodio disuelto en 12.5 ml de agua destilada. Para determinar los taninos, se colocaron 1.5 ml de los extractos de las dos especies vegetales en cuatro tubos de ensayo a los que se añadieron 100 µL de cada solución preparada. La presencia de un precipitado en las soluciones (a), (b) y (c) indicó un resultado positivo, mientras que la presencia de un precipitado en la solución (d) mostró un resultado negativo. Para analizar las saponinas, se agregaron 5 mL de los extractos de *D. viscosa* y *R. communis* en un tubo colocado en un baño de agua para hervir. Después de enfriar, el tubo se agitó vigorosamente para formar una espuma persistente que indicaba saponinas. Para analizar triterpenos y/o esteroides, (a) se preparó el reactivo Liebermann-Burchard con 2.5



mL de anhídrido acético y se añadieron 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado a 25 mL de etanol absoluto. La solución se manejó en un baño de hielo; (b) El reactivo de Salkowski consistió en ácido sulfúrico concentrado. En dos tubos de ensayo, se añadieron 5 mL de jugo. En cada tubo, se colocaron 5 mL de cloroformo y se agitaron los tubos. Los tubos se dejaron descansar para separar la fase orgánica de la acuosa. Las soluciones de Liebermann-Burchard y Salkowski se agregaron individualmente a cada tubo que contenía la fase orgánica. El precipitado y un cambio en el color de la muestra indicaron triterpenos y /o esteroides. Para analizar los derivados del antraceno, se colocaron 5 mL de los extractos en dos tubos a los que se agregaron 5 mL de cloroformo. Los tubos se agitaron y después de la separación de la fase orgánica, se eliminó la fase acuosa. Se añadió un mililitro de NaOH al 5% a un tubo y se añadió al mL 1 mL de acetato de magnesio al 5%. Un cambio de color indicaba antraquinonas.

Actividad afidicida en bioensayos de contacto

Extractos y fracciones de las especies vegetales fueron evaluados en un bioensayo de contacto sobre adultos de *M. sacchari*. Para esta prueba, se colocó una hoja de sorgo de 5 x 5 cm en una placa de Petri de plástico de 30 cm³ con papel de filtro en el fondo. Se añadió 1 mL de agua destilada para evitar que la hoja de sorgo se seque. En la hoja de sorgo se colocaron 10 adultos ápteros de *M. sacchari* usando un cepillo de pelo de camello. Se agregaron 10 µL de Tween 20 (= 0.2%) a cada uno de los extractos de *n*-hexano y acetona para permitir que se homogeneizara en 2 mL de agua. Se usó un aerógrafo marca estándar para asperjar 0.15 ml de cada mezcla a concentraciones de 10,000, 5,000 y 2,500 ppm sobre los pulgones. Cada



caja Petri se considera una repetición y se realizaron cinco repeticiones con dos replicas por tratamiento en un diseño completamente al azar. La variable respuesta será el porcentaje de mortalidad de los áfidos a 24, 48 y 72 horas posteriores.

Actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial

La dieta artificial utilizada para bioensayos fue informada por Toledo-Hernández *et al.*, (2018). En resumen, la dieta contiene 30% de sacarosa (Reasol, Iztapalapa-México, México) y agua embotellada, se complementó con 4.4 mL por L de formalina al 10% y 7.3 mL por L de 15% de cloruro de colina para prevenir el crecimiento de hongos y bacterias en la dieta. La cámara de alimentación utilizada en este estudio fue la misma reportada por Torres-Quintero *et al.*, (2013) y se diseñó a partir de dos copas de plástico desechables translúcidas de 40 mm de diámetro x 20 mm de alto (Envases Cuevas, Ecatepec de Morelos, Estado de México). En una taza, se pipetearon 2 ml de dieta y luego se sellaron con Parafilm® (Sigma-Aldrich, BR701605, St. Louis, Missouri, EE. UU.). La parte inferior de la segunda copa se retiró y la parte superior se invirtió en la taza con dieta. Se usó una tira de Parafilm para sellar las tazas juntas. En cada cámara de alimentación se colocaron 2 mL de la dieta, combinada con los extractos vegetales en concentraciones de 10,000, 5,000 y 2,500 ppm, estas muestras se homogenizaron con ayuda de un baño ultrasónico (Cole-Parmer®) se utilizaron como testigos el insecticida químico imidacloprid (Confial®) y la dieta artificial sin tratamiento. Dentro de cada cámara de alimentación se colocaron de forma manual 10 hembras adultas ápteras partenogénicas. Cada cámara se consideró como una repetición y se realizarán cinco repeticiones por tratamiento en un diseño completamente al



azar con dos repeticiones. La variable respuesta será el porcentaje de mortalidad de los áfidos a las 24, 48 y 72 horas posteriores.

Estadística

Los datos de mortalidad se transformaron por la función Arcoseno antes de someterse a su análisis estadístico, en un diseño completamente al azar a través de un modelo simple utilizando un procedimiento lineal general. La comparación de medias se realizó mediante la prueba Tukey a un nivel de significancia de $P = <0.05$. Por otra parte, los tratamientos que tuvieron un efecto dependiente a la concentración se sometieron a un análisis de regresión, con la finalidad de calcular la concentración letal media (CL_{50}) mediante el análisis Probit en el programa estadístico SAS ver. 9.0. (SAS, 2002).



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimientos de los extractos vegetales

Los rendimientos de los extractos de *n*-hexano, acetona y metanol de *R. communis*, *D. viscosa* y las fracciones hidroalcoholicas *S. schiedeana* se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Rendimientos (%) de los extractos de *Dodonaea viscosa*, *Ricinus communis* y *Serjania schiedeana*.

<i>Dodonaea viscosa</i>	Rendimiento (%)		
	<i>n</i> -hexano	Acetona	Metanol
Hoja	2	12	24

<i>Ricinus communis</i>	Rendimiento (%)		
	<i>n</i> -hexano	Acetona	Metanol
Semilla	12	34	2
Hoja	8	2	16
Fruto	2	4	4
Raíz	0.5	0.9	3.8

<i>Serjania schiedeana</i>	Rendimiento (%)		
	Extracto de metanol	Fracción acuosa	Fracción de acetato de etilo
Tallo	11	38	7.6



Dodonaea viscosa

Actividad afidicida en bioensayos de contacto

Los resultados de los bioensayos de contacto de diferentes extractos de hojas de *D. viscosa* se muestran en la tabla 2, donde se puede observar que el extracto de acetona a una concentración de 10,000 ppm, muestra la más alta mortalidad de los áfidos del 41 %, a las 72 h, seguido por el extracto de *n*-hexano y el de metanol con un 33 y 24 % de mortalidad, respectivamente, a las 72 h, ningún tratamiento fue estadísticamente similar al control positivo (imidacloprid), quien eliminó al 100 % de los áfidos en 48 h.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de adultos ápteros de *M. sacchari* sometidos a diferentes extractos de hojas de *D. viscosa* en bioensayos de contacto.

Tratamientos	2,500 ppm			5,000 ppm			10,000 ppm		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Hexano	3 \pm 0.4 b	5 \pm 0.8 bc	12 \pm 1.7 bc	5 \pm 0.7 b	11 \pm 0.8 bc	16 \pm 0.6 bc	8 \pm 0.7 bc	19 \pm 1.4 b	33 \pm 1.7 bc
Acetona	3 \pm 0.4 b	9 \pm 0.9 bc	21 \pm 1.5 b	6 \pm 0.5 b	15 \pm 1.5 b	25 \pm 1.2 b	12 \pm 0.7 b	24 \pm 1.7 b	41 \pm 1.7 b
Metanol	0 \pm 0 b	8 \pm 0.4 b	17 \pm 0.6 bc	3 \pm 0.4 b	14 \pm 0.5 b	22 \pm 1.3 b	4 \pm 0.5 cd	18 \pm 0.9 b	24 \pm 1.1 c
Imidacloprid	43 \pm 1.3 a	76 \pm 2.1 a	97 \pm 0.4 a	65 \pm 2 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a	100 \pm 0 a
Dieta artificial	0 \pm 0 b	0 \pm 0 c	6 \pm 0.5 c	0 \pm 0 b	0 \pm 0 c	6 \pm 0.5 c	0 \pm 0 d	0 \pm 0 c	6 \pm 0.5 d

Dentro de cada columna, compartir una letra no es significativamente diferente ($P \geq 0.05$).

Cabe destacar, que no existen reportes de la actividad insecticida en bioensayos de contacto contra alguna especie de áfido de extractos de *D. viscosa*, incluso para el género de esta planta, pero sí encontramos referencias sobre la actividad



insecticida de especies de sapindáceas contra otros insectos, como el efecto de aceites esenciales de *Paullinia pinnata* L. y *Dehinbollia pinnata* Schum (Sapindaceae) contra el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*, mostrando una mortalidad del 100% para ambas especies en bioensayos de contacto a concentraciones de 150,000 y 120,000 ppm, en 72 h, respectivamente, (Ogunwande *et al.*, 2017, Sunkanmi *et al.*, 2016). Nuestros resultados de extractos de baja polaridad sólo mostraron 33 % de mortalidad a concentraciones más bajas (10,000 ppm) contra *M. sacchari*. En otro estudio, se evaluó el efecto insecticida de hojas de la sapindácea *Sapindus emarginatus* contra larvas de *Musca domestica*, el extracto de polaridad intermedia baja (cloroformo) mostró el mejor efecto insecticida del 100 %, a 2 µL / 100 mL en el sexto día de aplicación del extracto (Raja and Suresh, 2017). En nuestro trabajo el extracto de polaridad intermedia alta (acetona) fue el que presentó el mejor efecto insecticida contra *M. sacchari* con un porcentaje de mortalidad del 41 % a 10,000 ppm, en 72 h. La actividad insecticida por contacto de extractos de polaridad alta de la familia Sapindaceae también ha sido probada, por ejemplo Eddaya *et al.*, (2013) evaluaron el efecto de frutos *Sapindus mukorossi* Gaerten contra *Thysanoplusia orichalcea* (Lepidoptera: Noctuidae), demostrando una actividad en el desarrollo larval entre el 7 a 68 % en 48 h. Nuestros resultados muestran que el extracto de alta polaridad (metanol) de hojas de *D. viscosa* causó la menor mortalidad de los áfidos (33 %) a una concentración de 10,000 ppm, en 72 h.

Actividad afidicida de bioensayos en dieta artificial

Los resultados de los bioensayos en dieta artificial de diferentes extractos de hojas de *D. viscosa* se muestran en la tabla 3, el extracto de metanol fue el que presentó



el mayor efecto tóxico con el 62 % de mortalidad de *M. sacchari* a 10,000 ppm, en todo el tiempo experimental de 72 h, seguido del extracto de acetona con el 45 % de mortalidad y con un menor efecto el extracto de *n*-hexano con el 25 % de mortalidad a 10,000 ppm en 72 h, el control positivo (imidacloprid) eliminó al 100 % de los áfidos en 48 h, a 5,000 ppm, mientras que el control negativo (dieta artificial) sólo eliminó al 5 % en todo el tiempo experimental de 72 h. Ningún tratamiento fue significativamente similar al control positivo.

Tabla 3. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de adultos ápteros de *M. sacchari* sometidos a diferentes extractos de hojas de *D. viscosa* en bioensayos de ingesta.

Tratamientos	2,500 ppm			5,000 ppm			10,000 ppm		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Hexano	0 \pm 0 b	5 \pm 0.5 bc	10 \pm 0.8 bcd	2.5 \pm 0.5 b	10 \pm 0.8 b	17 \pm 0.5 bc	5 \pm 0.5 b	17 \pm 0.9 bc	25 \pm 0.5 d
Acetona	0 \pm 0 b	2.5 \pm 0.5 bc	2.5 \pm 0.5 cd	0 \pm 0 b	7.5 \pm 0.9 b	12.5 \pm 1.5 cd	2.5 \pm 0.5 b	12.5 \pm 0.5 bcd	45 \pm 1.2 c
Metanol	0 \pm 0 b	2.5 \pm 0.5 bc	22 \pm 1.2 b	0 \pm 0 b	10 \pm 1.4 b	47 \pm 1.7 b	7.5 \pm 0.5 b	35 \pm 2.3 b	62 \pm 0.9 b
Imidacloprid	25 \pm 0.5 a	45 \pm 1.7 a	95 \pm 0.5 a	37 \pm 0.5 a	67 \pm 1.2 a	100 \pm 0 a	60 \pm 0.5 a	80 \pm 1.1 a	100 \pm 0 a
Dieta artificial	0 \pm 0 b	0 \pm 0 c	5 \pm 0.5 d	0 \pm 0 b	0 \pm 0 b	5 \pm 0.5 d	0 \pm 0 b	0 \pm 0 d	5 \pm 0.5 e

Dentro de cada columna, compartir una letra no es significativamente diferente ($P \geq 0.05$)

Perfil fitoquímico cualitativo del extracto de metanol de *Dodonaea viscosa*.

Los grupos de compuestos presentes en el extracto de metanol de hojas de *D. viscosa* son: alcaloides, cumarinas, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos y/o esteroides y antracenos (tabla 4). Estudios fitoquímicos previos indican que *D. viscosa* contiene metabolitos secundarios del tipo flavonoides y terpenoide. Hsü y



Chen (1971) aislaron de las hojas de *D. viscosa* un diterpeno llamado ácido hautriwaico. Sachdev y Kulshreshtha (1983) aislaron diversos flavonoides de una fracción de cloroformo de *D. viscosa* como santina, penduletina, 5-hidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxi-flavona, pinocembrina, 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona. Sachdev y Kulshreshtha (1986), reportaron la presencia de viscosol un flavonoide prenilado aislado las hojas de *D. viscosa*. Cao *et al.* (2009), aislaron de las raíces de *D. viscosa* dos saponinas triterpenoides dodoneasidos. También en las partes aéreas *D. viscosa* se reportó tres diterpenos *ent*-labdanos en un extracto etanólico de *D. viscosa* (Quintana de Oliveira *et al.* 2012).



Tabla 4. Grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto de metanol de *Dodonaea viscosa*.

Grupos de metabolitos	Ensayo	Resultados	Reacción observada
Alcaloides	Reacción de Wagner	++	Cambio de color a café
	Reacción de Mayer	+	Cambio de color a amarillo y precipitación
	Reacción de Dragendorff	+	Cambio de color a marrón y precipitación
Cumarinas	Test de fluorescencia en papel filtro	+	Fluorescencia amarilla
Flavonoides	Adición de Mg y HCl	+++	Cambio de color de amarillo a rojo después de 24 horas.
Taninos	Cloruro férrico	++	Halo verde
	Solución de gelatina	-	Precipitado blanco
	Solución salina y gelatina	+	Precipitado blanco
	Solución de gelatina	-	-
Saponinas	Formación de espuma	++	Formación de espuma persistente
Triterpenos y esteroides	Reacción de Liberman-Burchard	++	Cambio de color a verde, azul o rojo
	Reacción de Salkowski	++	Precipitado blanco y cambio de color a naranja
Derivados del antraceno	NaOH 5%	++	Cambio a coloración rojiza
	Acetato de Mg al 0.5%	-	

(-) no detectada, (+) prueba positiva débil, (++) prueba positiva, (+++) prueba positiva fuerte



Evaluación de fracciones del extracto metanólico de *D. viscosa*

Las fracciones obtenidas del extracto de metanol de *D. viscosa* (F1-F4), se evaluaron a diferentes concentraciones en bioensayos en dieta artificial contra *M. sacchari* (Fig. 11). De todas las fracciones evaluadas, F3 a 10,000 ppm a 72 h, fue la que presentó un mayor porcentaje de mortalidad (70%), no habiendo diferencias significativas con el control positivo, seguida de la fracción F4 con un 60% y finalmente, F1 y F2 con un 20 y 10%, a 10,000 ppm, en 72 h, respectivamente. Además, F3 y F4 lograron una buena mortalidad afidicida del 60 y 55 % a 5,000 ppm, y de 52 y 50 % a 2500 ppm, en 72 h, respectivamente, siendo diferentes estadísticamente al control positivo.

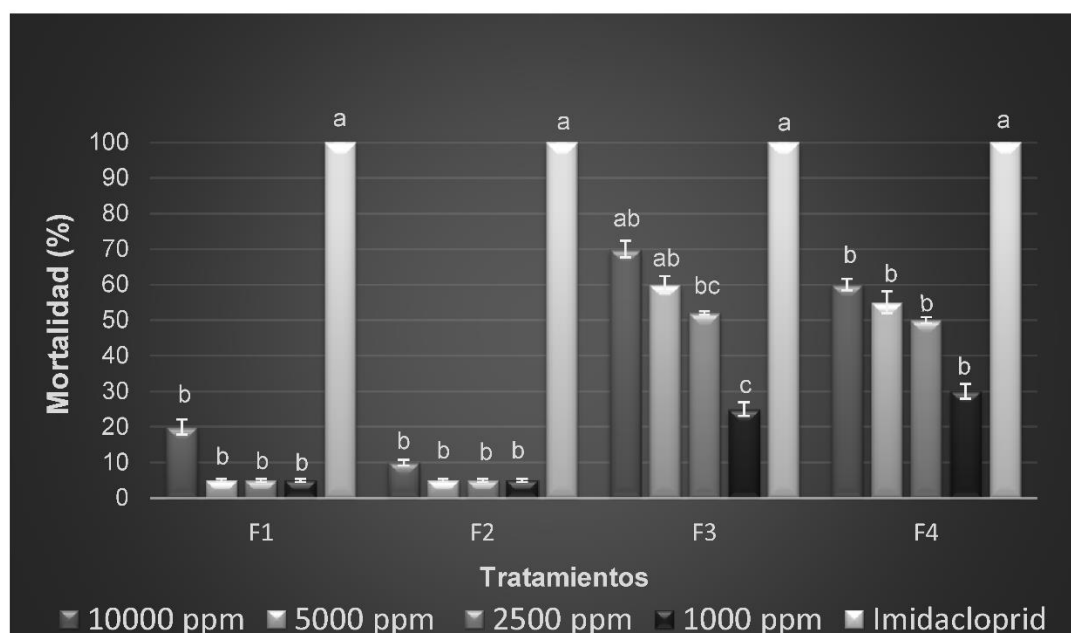


Figura 11. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de *Melanaphis sacchari* en dieta artificial de varias fracciones y concentraciones del extracto de metanol de *D. viscosa* a las 72 h, en comparación con imidacloprid como control positivo. Las



medias con letras diferentes para cada fracción fueron significativamente diferentes, Tukey ($P \leq 0.05$).

Obtención e identificación de rutina

La fracción F3 presentó el porcentaje de mortalidad más alto y por eso se estudió más a fondo. En el análisis de HPLC de F3, se identificó un pico de expresión correspondiente a la rutina (RT: 8.9 min), este pico fue muy similar al estándar comercial de rutina (RT: 9.0 min) (Fig. 12). El espectro de RMN de ^1H y ^{13}C revelaron la presencia de un esqueleto de flavonol y la presencia de dos azúcares unidos en posición 1'' de ramnosa con 6'' de la glucosa el cual es conocido como rutinósido, por lo que los datos espectroscópicos obtenidos y la comparación con los datos reportados en la literatura (De Oliveira *et al.*, 2013; Akkol *et al.*, 2015) determinaron que este compuesto corresponde a 3-O-rutinósido de quercetina (Fig. 13): RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD); δ 6.20 (1H, d, 2.3 Hz, H-6), 6.39 (1H, d, 2.3 Hz, H-8), 7.67 (1H, d, 2.3 Hz, H-2'), 6.87 (1H, d, 8.5 Hz, H-5'), 7.63 (1H, dd, 2.3, 8.5 Hz, H-6'), 5.1 (1H, d, 7.4 Hz, H-1''), 3.26-3.48 (4H, m, H-2''; H-3'', H-4'', H-5''), 3.39 (1H, m, H-6a''), 3.81 (1H, d, 10.9 Hz, H-6b''), 4.52 (1H, d, 1.5 Hz, H-1'''), 3.63 (1H, m, H-2'''), 3.54 (1H, dd, 9.5, 9.5 Hz, H-3'''), 3.27 (1H, m, H-4'''), 3.44 (1H, m, H-5'''), 1.12 (3H, d, 6.2, H-6'''); NMR ^{13}C (100 MHz, CD_3OD); δ 158.6 (C-2), 135.7 (C-3), 179.4 (C-4), 163.0 (C-5), 100.1 (C-6), 166.4 (C-7), 95.0 (C-8), 159.4 (C-9), 105.6 (C-10), 123.2 (C-1'), 116.1 (C-2'), 145.9 (C-3'), 149.9 (C-4'), 117.8 (C-5'), 123.8 (C-6'), 104.8 (C-1''), 75.8 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.4 (C-4''), 77.2 (C-5''), 68.6 (C-6''), 102.5 (C-1'''), 72.3 (C-2'''), 72.2 (C-3'''), 74.0 (C-4'''), 69.8 (C-5'''), 18.1 (C-6''').



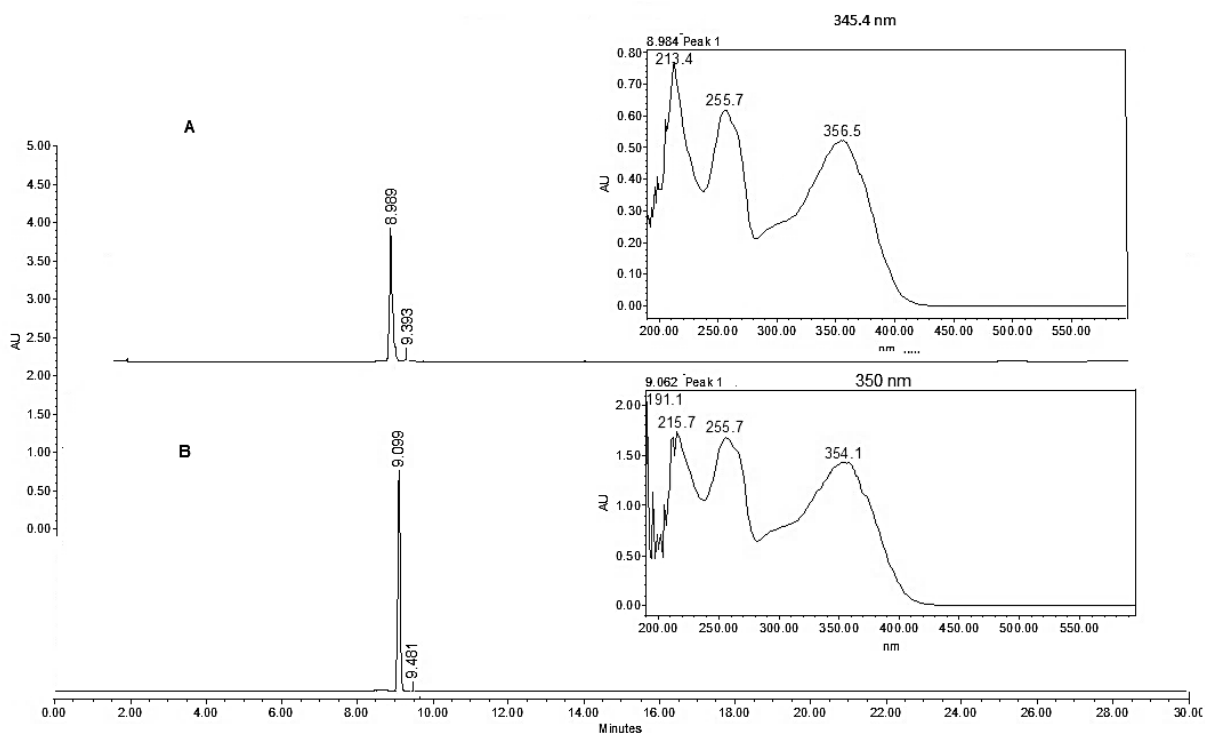


Figura 12. Cromatograma de HPLC y espectros de UV, A) Compuesto mayoritario aislado de F3, B) Estándar de 3-O-rutinósido de quercetina (rutina).

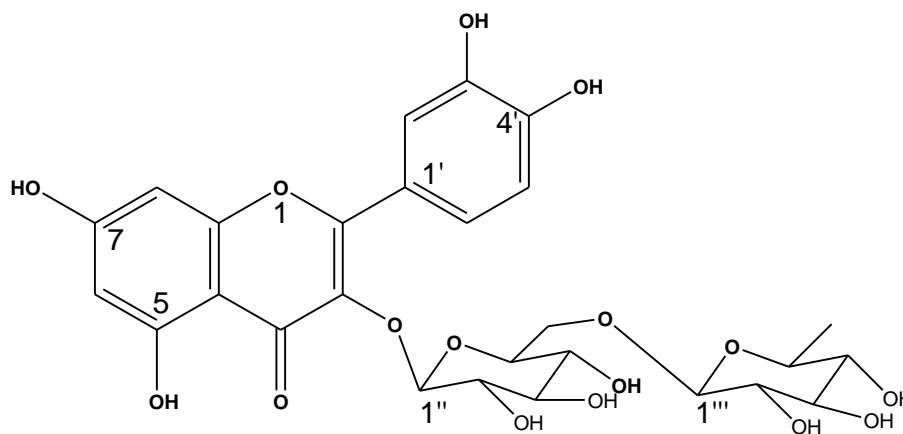


Fig. 13. Estructura química del 3-O-rutinósido de quercetina (rutina), identificada en la fracción activa (F3), del extracto metanólico de *D. viscosa*.



Hasta el momento, no existen reportes recientes en la bibliografía, sobre estudios de actividad afidicida de extractos botánicos, ni de compuestos en dieta artificial, algunos autores reportan a la rutina con un efecto tóxico contra otros insectos, Silva *et al.*, (2016), evaluaron en concentraciones de 1, 2 y 3 mg/g⁻¹ en dieta artificial frente a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), mostrando un prolongamiento en el tiempo de desarrollo larvario, reducción del peso y viabilidad de larvas y pupas. En otra investigación de extractos de *Hybanthus parviflorus* (Violaceae) mostró una actividad insecticida del 50% contra *Ceratitis capitata* Wied, cuantificando por HPLC a la rutina como el principal flavonoide presente en la fracción activa (Broussalis *et al.*, 2010). El compuesto mayoritario presente en la fracción más activa F3 del extracto de metanol de *D. viscosa* fue identificado como el flavonoide rutina. Esto permite proponer que el efecto afidicida de F3 se debe principalmente a la presencia de este flavonoide.

Actividad afidicida de rutina en bioensayo en dieta artificial

Los resultados de los bioensayos en dieta artificial con rutina frente a *M. sacchari* se muestran en la figura 14, el mayor porcentaje de mortalidad (62 %) se obtuvo a una concentración de 10,000 ppm, seguido del 48 y 42 % a 5,000 y 2,500 ppm, en 72 horas, el control negativo sólo presentó una mortalidad del 4% y el control positivo logró una mortalidad del 100%. Ningún tratamiento fue estadísticamente similar al control positivo. Rutina presentó una menor mortalidad (62%) en comparación con la fracción F3 (70%), esto puede estar relacionado con los compuestos minoritarios de tipo polifenólico presentes en F3, quienes podrían actuar en sinergia con rutina y potenciar su efecto afidicida.



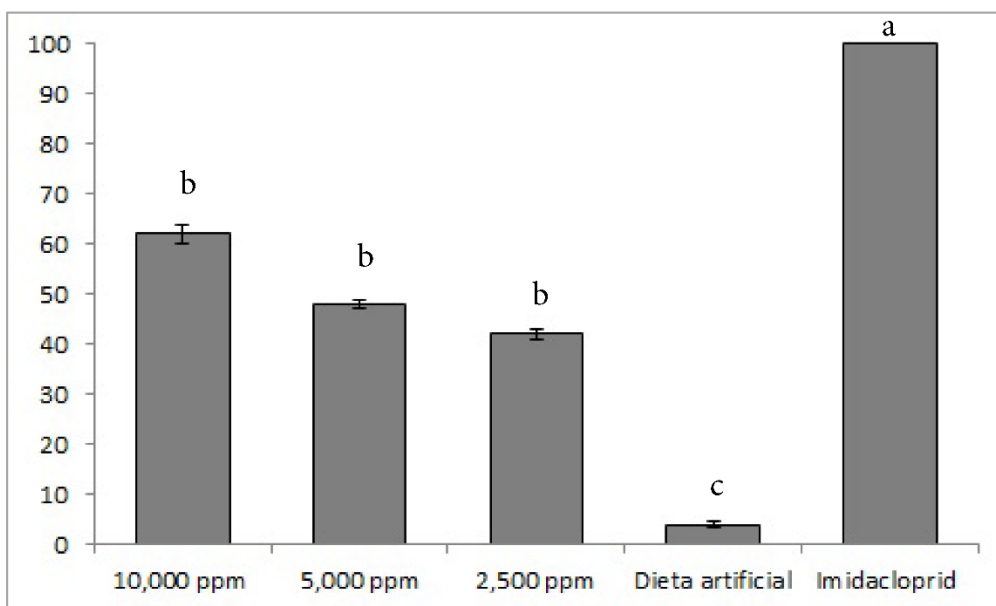


Figura 14. Actividad afidicida de rutina contra *M. sacchari* en diferentes concentraciones, a las 72 h posteriores a la aplicación de los tratamientos (Tukey < 0.05).

Ricinus communis

Actividad afidicida en bioensayos de contacto

En general, los extractos de *n*-hexano de diferentes partes de *R. communis* proporcionaron un efecto afidicida importante (tabla 5), el extracto de semilla fue la parte de la planta que causó la mayor tasa de mortalidad del 90 y 100 % en 24 y 48 h, a 10,000 ppm, respectivamente, no habiendo diferencias significativas con el control positivo, también el extracto hexánico de semilla en concentraciones de 5,000 ppm mostró un buen efecto afidicida del 88 %, siendo similar estadísticamente al control positivo. El extracto de *n*-hexano de la hoja de *R.*



communis a 10,000 ppm provocó mortalidades del 96% a las 72 h. Pero la mortalidad de áfidos entre 5,000 y 10,000 ppm no fue significativamente diferente en este período de tiempo. A 10,000 ppm, la mortalidad del extracto de hojas no fue significativamente diferente al de raíz, fruto y el control positivo, imidacloprid, a las 72 h. A las 48 h, el extracto de hojas a 5000 y 10,000 ppm tampoco mostró diferencias significativas en comparación con el control positivo, mostrando mortalidades de entre 70 y 94% respectivamente. Del mismo modo, el extracto de fruto y de raíz a 10,000 ppm no fueron significativamente diferentes del control positivo a las 48 h. Finalmente, los resultados muestran que los extractos de *n*-hexano en 24 h, no son estadísticamente comparables con el control positivo.



Tabla 5. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos de contacto de extractos de *n*-hexano de varias partes de *Ricinus communis*.

Tratamientos	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		
		24 h	48 h	72 h
Semilla	10,000	90 \pm 1.2 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a
	5,000	38 \pm 0.8 ^{cd}	68 \pm 1.9 ^{bc}	88 \pm 0.8 ^a
	2,500	24 \pm 1.3 ^{de}	50 \pm 0.7 ^{bc}	60 \pm 0.7 ^{bcde}
Hoja	10,000	60 \pm 2 ^{bcd}	94 \pm 1.3 ^a	96 \pm 0.8 ^a
	5,000	50 \pm 1 ^{bcd}	70 \pm 1.2 ^{abc}	74 \pm 1.1 ^{abcd}
	2,500	20 \pm 0.4 ^{ed}	38 \pm 1.2 ^{cd}	42 \pm 1.4 ^{bcde}
Fruto	10,000	66 \pm 1.6 ^{bc}	78 \pm 1.7 ^{ab}	84 \pm 1.5 ^{abc}
	5,000	22 \pm 1.9 ^{de}	32 \pm 1.6 ^{de}	44 \pm 0.8 ^{de}
	2,500	26 \pm 1.6 ^{cd}	42 \pm 2.3 ^{cd}	42 \pm 2.3 ^e
Raíz	10,000	76 \pm 1.5 ^b	86 \pm 1.6 ^a	88 \pm 1.3 ^{ab}
	5,000	32 \pm 2.3 ^{cd}	46 \pm 2.3 ^{bcd}	60 \pm 2.4 ^{bcde}
	2,500	28 \pm 1.7 ^{bcd}	36 \pm 2 ^{bcd}	54 \pm 1.6 ^{cde}
Tween 20 (Control negativo)	2,000	0 \pm 0 ^e	0 \pm 0 ^e	6 \pm 0.5 ^f
Imidacloprid (Control positivo)	10,000	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a

Las medias en cada columna con una letra diferente fueron significativamente diferentes, prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

En la tabla 6 se reporta la concentración letal (CL_{50} y CL_{90}), de los diferentes tratamientos de los extractos de *n*-hexano de las diferentes partes de *R. communis*, donde se puede observar que el extracto de hoja presenta el mejor efecto afidicida ($CL_{50} = 1,858$ ppm en 72 h).



Tabla 6. Concentración letal media (CL₅₀) e intervalos de confianza de diferentes tratamientos del extracto de *n*-hexano de *Ricinus communis*.

Tratamientos	CL ₅₀	Intervalo de Confianza		CL ₉₀	Intervalo de Confianza	
		Inferior	Superior		Inferior	Superior
Semilla	2,417	1,428	3,178	5,189	4,057	7,300
Hoja	1,858	685.50	2,777	7,030	5,068	13,204
Fruto	3,614	1,538	5,491	17,922	10,844	67,162
Raíz	2,300	566.32	3,781	14,632	8,575	74,268

En la bibliografía reciente no se reportan estudios de bioensayos de contacto de extractos botánicos contra *M. sacchari*, pero si hemos encontrado informes de extractos de baja polaridad con actividad insecticida de otras especies de pulgones y otros insectos, similares a nuestros resultados, como el de Ateyyat y Abu-Darwish, (2009) evaluaron extractos hexánicos de la corteza de *Rhamnus dispermus* (Ehrenb) contra el pulgón *Pterochloroides persicae* Cholodkovsky (Hemiptera: Aphididae), provocando un 40% de mortalidad a 10,000 ppm, en 72 h. Los resultados de nuestra investigación en el tiempo de 48 h, muestran una buena actividad insecticida con rangos del 78 al 94 % a 10,000 ppm, de 32 al 70 % a 5,000 ppm y 38 al 42 % a 2,500 ppm, similares a estudios previos, como el de Arya *et al.*, (2014) probaron los extractos de éter de petróleo de semillas de *R. communis* frente a *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae), concentraciones de 10,000 ppm y 5,000 ppm causaron 100 y 75% de mortalidad, respectivamente, en 48 h. Hewage *et al.*, (1997) informaron que el extracto hexánico de *Pleiospermium alatum* Wight & Arn. produjo un 90% de mortalidad a 4,000 ppm, a las 48 h, para el pulgón *Aphis craccivora* Koch. Otra investigación de Rodríguez *et al.*, (2012) demostraron que los extractos de éter de petróleo de *Picrasma crenata*



Vell., provocó una mortalidad del 75% a 6,000 ppm, a las 48 h sobre *Myzus persicae*.

Nuestros estudios revelan que la acción insecticida de los extractos hexánicos a 24 h posteriores a la aplicación de los tratamientos, son menos efectivos en comparación a los otros tiempos, con porcentajes de mortalidad del 60 al 90 % a 10,000 ppm, de 38 al 50 % a 5,000 ppm y del 24 al 28 % a 2,500 ppm, siendo parecidos a los publicados por Singh *et al.* (1988) quien evaluó la actividad insecticida del extracto hexánico de semillas de *Azadirachta indica* A. Juss. la cual provocó un 48% de mortalidad a 5,000 ppm, en 24 h, para el pulgón de la mostaza *Lipaphis erysimi*. También, en una investigación de Nia *et al.* (2015) demostraron que el extracto de éter de petróleo de *Artemisia herba-alba* Asso causó una mortalidad del 40 % a 10,000 ppm, en 24 h, para el pulgón *Myzus persicae*.

Tomando en cuenta, que la cutícula de los áfidos se encuentra compuesta principalmente por esteroides alquílicos, esteroides metílicos de ácidos grasos, triacilgliceridos y ácidos grasos libres (Brey *et al.*, 1985), es posible que la efectividad de los extractos hexánicos se deba a la afinidad química de los compuestos de baja polaridad, presentes en el extracto con la cutícula de los áfidos.

Por otra parte, los extractos de acetona de diversas partes de *R. communis* en general, fueron menos efectivos que los extractos de *n*-hexano (tabla 7). El extracto de hoja y el de raíz presentaron la mayor mortalidad de los áfidos, con un 54 y 44 % respectivamente, a 10,000 ppm, a las 72 h, siendo significativamente diferentes del control positivo. Por otro lado, se observa que el porcentaje de mortalidad a las



24 y 48 h, de los tratamientos es inferior al 50%. Estadísticamente ningún tratamiento fue comparable con el control positivo (imidacloprid).

Tabla 7. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos de extractos de acetona de varias partes de *Ricinus communis*.

Tratamientos	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		
		24 h	48 h	72 h
Semilla	10,000	26 \pm 1.5 ^{bc}	28 \pm 1.9	42 \pm 1.7 ^{bcd}
	5,000	22 \pm 1 ^{bc}	24 \pm 1.1	32 \pm 1.6 ^{def}
	2,500	20 \pm 0.7 ^{bc}	22 \pm 0.8	26 \pm 2.6 ^{def}
Hoja	10,000	40 \pm 2.9 ^b	46 \pm 3 ^b	54 \pm 2 ^b
	5,000	28 \pm 0.8 ^{bc}	40 \pm 1.5 ^{bc}	50 \pm 1 ^{bc}
	2,500	20 \pm 2.3 ^{bc}	34 \pm 1.1 ^{bcd}	46 \pm 1.1 ^{bcd}
Fruto	10,000	4 \pm 0.8 ^{bc}	6 \pm 0.8 ^{ef}	22 \pm 1.6 ^{def}
	5,000	0 \pm 0 ^c	4 \pm 0.5 ^f	20 \pm 1 ^{def}
	2,500	0 \pm 0 ^c	4 \pm 0.8 ^f	16 \pm 0.8 ^{ef}
Raíz	10,000	20 \pm 0.7 ^{bc}	32 \pm 0.8 ^{bcd}	44 \pm 0.8 ^{bcd}
	5,000	12 \pm 1.3 ^{bc}	18 \pm 0.8 ^{cdef}	40 \pm 1 ^{bcd}
	2,500	10 \pm 0.7 ^{bc}	12 \pm 0.8 ^{def}	22 \pm 1.3 ^{def}
Tween 20 (Control negativo)	2,000	0 \pm 0 ^c	0 \pm 0 ^f	6 \pm 0.5 ^f
Imidacloprid (Control positivo)	10,000	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a

Las medias en cada columna con una letra diferente fueron significativamente diferentes, prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

En la bibliografía reciente podemos encontrar escasos reportes de extractos vegetales de polaridad intermedia contra áfidos, por ejemplo, Ofuya y Okuku, (1994) demostraron que el extracto de acetona de *Zingiber officinale* Ros. y *Momordica charantia* L. produce con un efecto insecticida del 100 %, para ambas plantas en concentraciones de 0.2 g/10 ml, a las 48 h, contra el pulgón negro de las



leguminosas *Aphis craccivora*. Rodríguez *et al.* (2012) mediante un bioensayo de contacto determinaron que un extracto de polaridad intermedia (acetato de etilo) de *Picrasma crenata* Vell. (Simaroubaceae) causó una mortalidad del 100%, a 3,000 y 6,000 ppm contra *Myzus persicae*. Estos resultados son contrarios a los presentados en nuestra investigación, la mayor mortalidad que reportamos del extracto acetónico de hoja de *R. communis* fue del 54 % a 10,000 ppm, en 72 h, esto puede deberse a que algunas especies de plantas contienen compuestos químicos más tóxicos que otros.

Los extractos metanólicos de *R. communis* produjeron un menor efecto insecticida que los extractos de *n*-hexano y acetona (tabla 8). El único tratamiento que causó una mortalidad moderada fue el extracto metanólico de hojas con 54%, a 10,000 ppm, en 72 h, seguido de la raíz y semilla con 44 y 34 %, respectivamente.



Tabla 8. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos de contacto de extractos de metanol de varias partes de *Ricinus communis*.

Tratamientos	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		
		24 h	48 h	72 h
Semilla	10,000	8 \pm 0.8 ^{bc}	22 \pm 1.3 ^{cdef}	34 \pm 1.1 ^{def}
	5,000	6 \pm 0.8 ^{bc}	18 \pm 0.8 ^{cdef}	30 \pm 1.2 ^{def}
	2,500	4 \pm 0.5 ^{bc}	12 \pm 0.8 ^{def}	24 \pm 1.6 ^{def}
Hoja	10,000	40 \pm 2.9 ^b	46 \pm 3 ^b	54 \pm 2 ^b
	5,000	28 \pm 0.8 ^{bc}	40 \pm 1.5 ^{bc}	50 \pm 1 ^{bc}
	2,500	20 \pm 2.3 ^{bc}	34 \pm 1.1 ^{bcd}	46 \pm 1.1 ^{bcd}
Fruto	10,000	4 \pm 0.8 ^{bc}	6 \pm 0.8 ^{ef}	22 \pm 1.6 ^{def}
	5,000	0 \pm 0 ^c	4 \pm 0.5 ^f	20 \pm 1 ^{def}
	2,500	0 \pm 0 ^c	4 \pm 0.8 ^f	16 \pm 0.8 ^{ef}
Raíz	10,000	20 \pm 0.7 ^{bc}	32 \pm 0.8 ^{bcde}	44 \pm 0.8 ^{bcd}
	5,000	12 \pm 1.3 ^{bc}	18 \pm 0.8 ^{cdef}	40 \pm 1 ^{bcde}
	2,500	10 \pm 0.7 ^{bc}	12 \pm 0.8 ^{def}	22 \pm 1.3 ^{def}
Tween 20 (Control negativo)	2,000	0 \pm 0 ^c	0 \pm 0 ^f	6 \pm 0.5 ^f
Imidacloprid (Control positivo)	10,000	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a

Las medias en cada columna con una letra diferente fueron significativamente diferentes, prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

Asimismo, literatura previa revela que extractos de polaridad alta cuentan con efecto insecticida y repelente, como por ejemplo, los extractos metanólicos de *Impatiens parviflora* e *Impatiens glandulifera* (Balsaminaceae), que fueron evaluados contra *Myzus persicae*, las dos plantas presentaron actividad insecticida y repelente después de 54 horas de exposición, el extracto más activo fue el de *Impatiens parviflora* con 99.7 y 90.0% de mortalidad a concentraciones de 0.5 y 0.1 %, respectivamente, y un efecto repelente entre 90 al 100% (Pavela *et al.*, 2009). En otro estudio, Do-Ik *et al.*, (2005) probaron el efecto insecticida de 22 especies



de plantas a 10,000 ppm, contra *Aphis gossypii* y *Myzus persicae*, los extractos de hojas de *Ficus carica* L. (Moraceae) y frutos de *Gardenia jasminoides* J.Ellis (Rubiaceae) presentaron un rango de supervivencia entre 1.5 a 7.2% contra las dos especies de áfidos. Nuestros resultados muestran que los extractos de polaridad alta (metanol), no fueron efectivos teniendo porcentajes de mortalidad bajos, excluyendo al extracto de hojas (54 %), esto es debido a nula afinidad hacia el cuerpo graso de *M. sacchari*.

El extracto de *n*-hexano de las semillas de *R. communis* fue la más efectiva mostrando porcentajes de mortalidad del 100 % en 48 h, contra *M. sacchari*, para conocer los componentes químicos presentes en la semilla de *R. communis* se realizó un estudio de cromatografía gases-masas (CG-MS) (Fig. 15). La CG-MS reveló la presencia de tres compuestos principales, identificados como escualeno, β -tocoferol y β -sitosterol con 51.57%, 12.94% y 11.79% respectivamente. Además, se identificaron otros compuestos: nonacosano, δ -tocoferol, Stigmasta-5.22-dien-3-ol y Stigmasta-5,24 (28) -dien-3-ol (Fig. 16). Todos los compuestos se confirmaron según el pico de área, el tiempo de retención y la fórmula molecular.



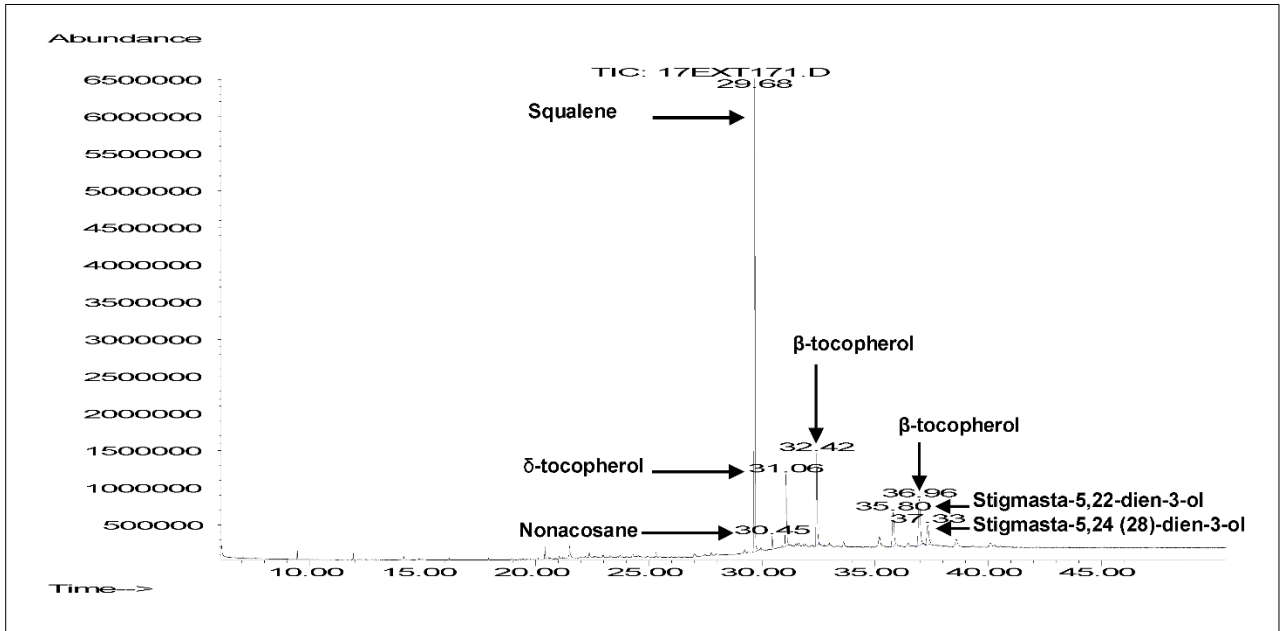


Figura 15. Espectro de masas del extracto de hexano de semillas de *R. communis*

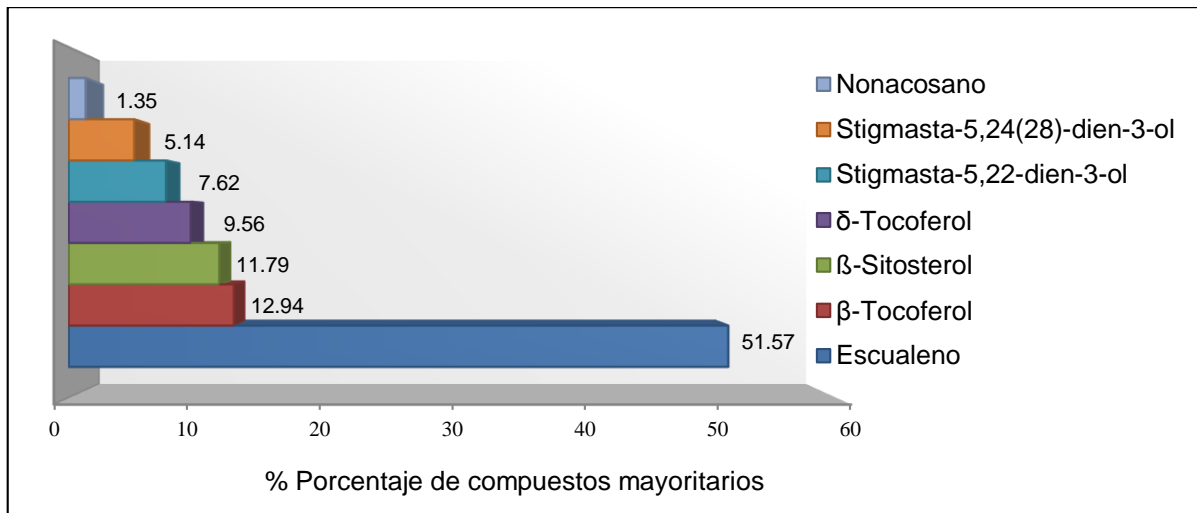


Figura 16. Porcentajes de los constituyentes mayoritarios del extracto hexánico de la semilla de *R. communis*.



Algunos de estos compuestos fueron identificados en *R. communis* como el escualeno y algunos esteroides, incluidos stigmastan-3,5-dien, campesterol, stigmasterol, β -sitosterol y stigmasta-5.24 (28) -dien-3-ol (Bataglion *et al.*, 2014). En nuestro estudio se identificaron triterpenos de escualeno alifático y varios esteroides, como stigmasta-5.22-dien-3-ol, β -sitosterol y stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol. El escualeno se reportó anteriormente en pequeñas cantidades en las semillas de *R. communis* (Robinson y West, 1970), en cambio, fue uno de los constituyentes mayoritarios de las variedades de aceite de ricino de Brasil (De Souza-Schneider *et al.*, 2007). En este estudio, fue el compuesto mayoritario en el extracto de *n*-hexano de semillas de *R. communis*, el *n*-alcano nonacosano se ha aislado como el componente principal (71.7%) de dos cultivares de *R. communis* brasileña (De Araújo-Silva *et al.*, 2017). En contraste, en este estudio fue el compuesto que registró la concentración más baja (1.35%). De Souza-Schneider *et al.*, (2007) identificaron el aceite derivado del tocoferol (vitamina E) y el fitosterol β -sitosterol como compuestos minoritarios. Asimismo, en este estudio, se identificó el derivado de la vitamina E, δ -tocoferol y dos fitosteroides, 1-3 stigmasta-5.22-dien-3-ol y stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol como compuestos minoritarios, así como otro fitosterol β -sitosterol como compuesto mayoritario.

Por otro lado, el extracto de *n*-hexano de hojas de *R. communis* demostró ser similar estadísticamente al control positivo y una concentración letal media de 1,858 ppm en 72 h, se decidió investigar más a fondo a las hojas debido a su rendimiento y abundancia de este material vegetal. El fraccionamiento en columna (CC) y la cromatografía en capa fina (CCF) del extracto de *n*-hexano de hojas de *R.*



communis permitió obtener fracciones basadas en su contenido químico en siete categorías (F1-F7). Los resultados de mortalidad de las fracciones en bioensayos de contacto se muestran en la figura 17. De todas las fracciones evaluadas, F3 fue estadísticamente similar en todas las concentraciones en efectividad a las 72 h, en comparación con imidacloprid.

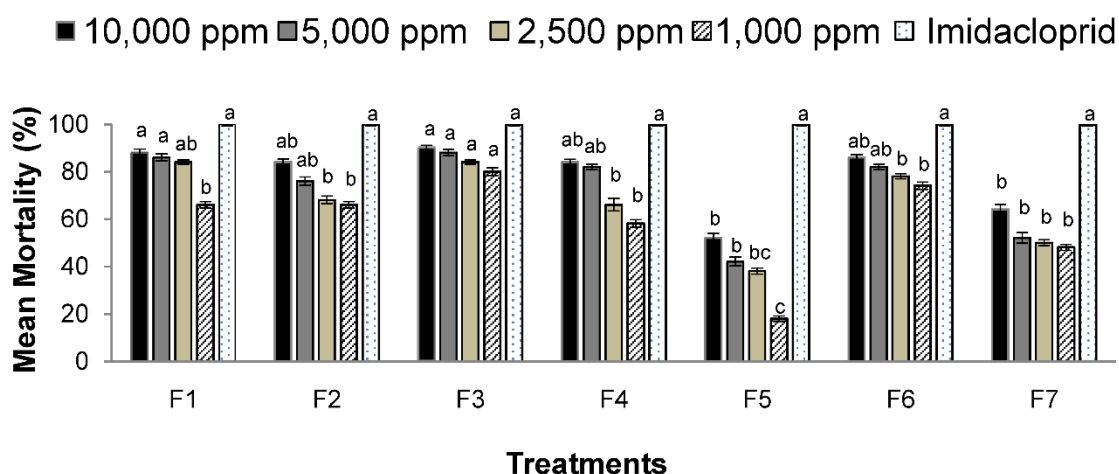


Figura 17. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos de contacto de varias fracciones y concentraciones de *Ricinus communis* en 72 h comparado con el imidacloprid como control positivo. Medias con diferente letra en la misma columna de cada fracción, son significativamente diferentes; comparación múltiple de medias ($P \leq 0.05$).

F3 presentó un efecto insecticida mayor que las otras fracciones y fue estadísticamente similar al control positivo. Por lo tanto, se realizó una purificación en columna cromatográfica para conocer la composición de la fracción; esa separación aisló dos compuestos mayoritarios, (ácido mirístico y ácido esteárico)



(Fig. 18) los cuales fueron identificados por CG-MS, arrojando los siguientes datos: ácido tetradecanoico o ácido mirístico (Fig. 18A) (6,8 min, 228 uma [M] + para $C_{14}H_{28}O_2$) y para ácido octadecanoico o ácido esteárico (Fig. 18B) (8,4 min, m/z 284 uma [M + H] + $C_{18}H_{36}O_2$).

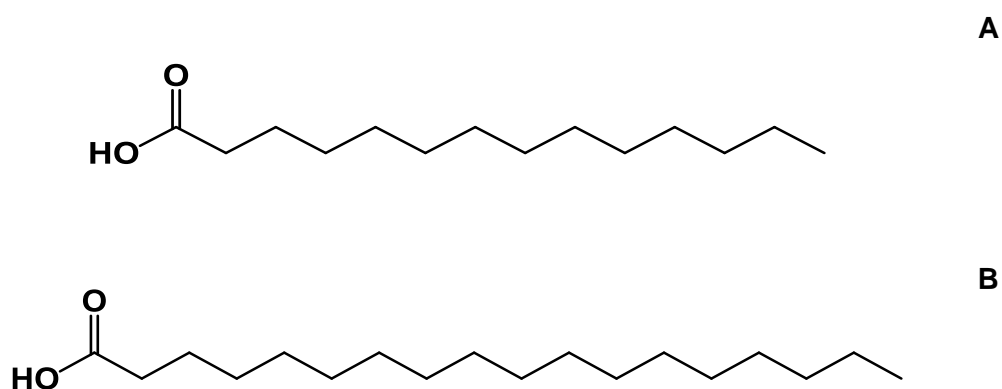


Figura 18. Compuestos mayoritarios aislados de la fracción F3 del extracto de hexano de hojas de *R. communis*, A) ácido mirístico B) ácido esteárico.

La fracción F3 del extracto de hojas de *R. communis*, mostró un potente efecto insecticida, y el fraccionamiento de F3 reveló la presencia de ácido mirístico y esteárico. Si bien no hay informes recientes de actividad insecticida de estos dos ácidos grasos contra las especies de pulgones, se ha demostrado que tienen efectos insecticidas contra los lepidópteros (Devanand y Rani 2008; Ramos-López *et al.*, 2012; Sharma y Gupta 2009). Sin embargo, en un estudio de la composición química y la actividad insecticida de diferentes especies de musgos, el extracto hexánico de *Polytrichastrum formosum* (Hedw. GL) condujo a una mortalidad del



70.33% en *Sitophilus granarius*, y el ácido láurico, mirístico y palmítico se comprobó por CG- MS, mediante bioensayos de toxicidad por contacto de estos ácidos grasos, el ácido mirístico presentó la mayor tasa de mortalidad del 53.34 % (Abay *et al.*, 2013). En nuestro trabajo, la mezcla de ácido mirístico y esteárico mostró una mortalidad del 90% en *M. sacchari* a las 72 h. Se ha demostrado que los ácidos de cadena saturada como el ácido esteárico inhiben la oviposición y matan los huevos de *Callosobruchus maculatus* (Lienard *et al.*, 1993). La actividad insecticida del ácido láurico (C₁₂H₂₄O₂), que es un ácido graso cuya estructura es muy similar al ácido mirístico y al ácido esteárico, mostró actividad insecticida contra los pulgones en un modelo de exposición tópica con una mortalidad del 100%. Los síntomas de la toxicidad del ácido láurico incluyen contracciones abdominales, deshidratación y necrosis dentro de las 24 h, lo que demuestra que la acción tóxica del ácido láurico en los pulgones no se debe solo a la asfixia, sino a cambios en la cutícula y a la desecación de las células debido a características químicas del ácido láurico (Sy Mohamad *et al.*, 2013).

Actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial

Los bioensayos en dieta artificial de los extractos de *n*-hexano, acetona y metanol de las hojas de *R. communis* se muestran en la tabla 9, el extracto de metanol fue quien provocó el más alto porcentaje de mortalidad de los áfidos (52%), seguida del extracto de acetona y *n*-hexano con un 47 y 42%, respectivamente, a 10,000 ppm, a las 72 h. Concentraciones bajas producen menores mortalidades como el extracto de metanol y acetona provocaron una mortalidad del 37% para ambas concentraciones y del 27 % para el extracto de *n*-hexano, a 5,000 ppm, en 72 h. Ningún tratamiento fue estadísticamente comparable con el control positivo.



Tabla 9. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos en dieta artificial de diferentes extractos de hojas de *Ricinus communis*.

Tratamientos	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		
		24 h	48 h	72 h
Hexano	10,000	2.5 \pm 0.5 ^b	15 \pm 1.3 ^{bc}	42 \pm 1.1 ^{bc}
	5,000	0 \pm 0. ^b	10 \pm 0.8 ^{bc}	27 \pm 0.5 ^{bcde}
	2,500	5 \pm 0.5 ^b	12.5 \pm 0.5 ^{bc}	15 \pm 0.5 ^{de}
Acetona	10,000	0 \pm 0 ^b	10 \pm 1.1 ^{bc}	47 \pm 1.7 ^b
	5,000	0 \pm 0 ^b	5 \pm 1 ^c	37 \pm 2 ^{bcd}
	2,500	0 \pm 0 ^b	2.5 \pm 0.5 ^c	20 \pm 1.4 ^{cde}
Metanol	10,000	10 \pm 1.4 ^b	15 \pm 1 ^{bc}	52 \pm 0.9 ^b
	5,000	0 \pm 0 ^b	25 \pm 0.5 ^b	37 \pm 2 ^{bcd}
	2,500	5 \pm 0.5 ^b	7.5 \pm 0.5 ^{bc}	27 \pm 1.2 ^{bcde}
Tween 20 (Control negativo)	2,000	0 \pm 0 ^b	0 \pm 0 ^c	6 \pm 0.5 ^e
Imidacloprid (Control positivo)	10,000	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a

Las medias en cada columna con una letra diferente fueron significativamente diferentes, prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

En la literatura reciente no se reporta la actividad insecticida por ingesta de extractos de *R. communis*, pero en un estudio de Olaifa *et al.*, (1991) determinaron que el pulgón verde del durazno *Myzus persicae*, cuando se alimentó de la hoja de *R. communis* murió de 8 a 24 h después, el HPLC reveló la presencia de ricinina en los pulgones. La ricinina es un alcaloide presente en diversas partes de *R. communis*, incluyendo a las hojas (Ribeiro *et al.*, 2016). Esto puede indicar que los compuestos de alta polaridad presentes en el extracto de metanol de las hojas de *R. communis* podrían estar relacionados con el efecto tóxico contra *M. sacchari*.



Serjania schiedeana

Actividad afidicida en bioensayos de contacto

Los resultados de los bioensayos de contacto de tallos de *S. schiedeana* contra *M. sacchari* se muestran en la tabla 10, la fracción de acetato de etilo a 10,000 ppm fue la que presentó el mayor efecto afidicida con el 78 % de mortalidad, seguida del extracto de metanol con un 42%, y finalmente, la fracción acuosa fue la que presentó el menor efecto afidicida con un 38 %, a las 72 h, el control negativo sólo presentó el 4 % de mortalidad en 72 h y el control positivo imidacloprid logró una mortalidad del 100 % a las 24 h. Ningún tratamiento fue estadísticamente similar al control positivo. En la tabla 11 se puede observar que la concentración letal media (CL₅₀) de la fracción de acetato de etilo de tallos de *S. schiedeana*, fue de 6,008 ppm en 72h.

La fracción de acetato de etilo de *S. schiedeana*, fue la que presentó el más alto porcentaje de mortalidad (78% en 72 h), mediante un estudio de CG-MS se identificaron a 12 constituyentes (tabla 12), siendo el palmitato de metilo el compuesto mayoritario presente en el extracto (38.66%). Este es el primer reporte de los compuestos presentes en el extracto de acetato de etilo de *S. schiedeana* y hasta el momento no conocemos reportes de la actividad insecticida de los extractos de baja polaridad de *S. schiedeana*, ni del palmitato de metilo contra *M. sacchari*, pero si se ha reportado la actividad acaricida (Wang *et al.*, 2010).



Tabla 10. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos de contacto de extracto y fracciones de tallos de *Serjania schiedeana*.

Tratamientos	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		
		24 h	48 h	72 h
Extracto de metanol	10,000	10 \pm 0.9 ^{cd}	16 \pm 0.8 ^{cd}	42 \pm 1.2 ^{bc}
	5,000	4 \pm 0.5 ^d	8 \pm 0.4 ^d	20 \pm 1.3 ^{cd}
	2,500	0 \pm 0 ^d	6 \pm 0.7 ^d	16 \pm 1.4 ^{cd}
	1,000	0 \pm 0 ^d	12 \pm 0.7 ^{cd}	14 \pm 1.0 ^{cd}
Fracción acuosa	10,000	14 \pm 0.5 ^c	26 \pm 1.0 ^{bc}	38 \pm 0.7 ^{bc}
	5,000	4 \pm 0.5 ^d	12 \pm 0.4 ^{cd}	22 \pm 2 ^{cd}
	2,500	2 \pm 0.4 ^d	10 \pm 0.6 ^{cd}	20 \pm 1.7 ^{cd}
	1,000	0 \pm 0 ^d	10 \pm 0.9 ^{cd}	16 \pm 0.5 ^{cd}
Fracción acetato de etilo	10,000	24 \pm 0.5 ^b	42 \pm 1.2 ^b	78 \pm 1.0 ^b
	5,000	4 \pm 0.5 ^d	8 \pm 0.4 ^d	46 \pm 2.4 ^{bc}
	2,500	0 \pm 0 ^d	6 \pm 0.5 ^d	16 \pm 1.4 ^{cd}
	1,000	0 \pm 0 ^d	12 \pm 0.7 ^{cd}	14 \pm 1.0 ^{cd}
Control negativo	0	0 \pm 0 ^d	0 \pm 0 ^d	4 \pm 0.5 ^d
Imidacloprid	10,000	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a

Las medias en cada columna con una letra diferente fueron significativamente diferentes, prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

Tabla 11. Concentración letal media (CL₅₀ y CL₉₀) e intervalos de confianza de la fracción de acetato de etilo en bioensayos de contacto de *Serjania schiedeana*.

Tratamiento	CL ₅₀	Intervalo de Confianza		CL ₉₀	Intervalo de Confianza	
		Inferior	Superior		Inferior	Superior
Fracción de acetato de etilo	6,008	4,599	7,385	15,037	10,994	33,453



Tabla 12. Composición química de la fracción de acetato de etilo de *Serjania schiedeana*.

Constituyentes	Tiempo de retención (min)	Cantidad (%)	Fórmula molecular
Fitol	17.72	1.18	C ₂₀ H ₄₀ O
Fitona	17.79	1.13	C ₁₈ H ₃₆ O
Palmitato de metilo	18.61	38.66	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
Araquinato de metilo	19.57	1.05	C ₂₁ H ₄₂ O ₂
4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-olido	20.24	15.99	C ₂₁ H ₄₀ O ₂
Linoleato de metilo	20.30	17.17	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
Oleato de metilo	20.51	3.41	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
Estearato de metilo	22.27	1.23	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
Behenato de metilo	22.58	2.07	C ₂₃ H ₄₆ O ₂
Tetracosanoato de metilo	24.39	12.97	C ₂₅ H ₅₀ O ₂
(4- (2,6-di-terc-butil-4-metoxifenoxi) -3-nitro-4-oxobutil) prolinato de terc-butilo	29.45	4.13	C ₂₈ H ₄₄ N ₂ O ₇
Total		98.99	

Actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial

Los resultados en dieta artificial de los extractos de tallos de *S. schiedeana* contra *M. sacchari* se muestran en la tabla 13. El resultado más notable fue producido por la fracción acuosa con porcentajes de mortalidad del 82, 56, 36 y 34 a 10,000, 5,000, 2,500 y 1,000 ppm en todo el tiempo experimental de 72 h, seguido del extracto de metanol con un 76 % a 10,000 ppm y finalmente, la fracción de acetato de etilo con un menor porcentaje de mortalidad 46 % a 10,000 ppm en 72 h. El control negativo sólo presentó el 4 % de mortalidad en 72 h y el control positivo imidacloprid logró una mortalidad del 100 % a las 24 h. Ningún tratamiento fue estadísticamente similar al control positivo. En la tabla 14 se puede observar que la



concentración letal media (CL₅₀) de la fracción acuosa de tallos de *S. schiedeana*, fue de 3,373 ppm en 72h.

Tabla 13. Porcentaje de mortalidad (\pm DE) de ápteros de *Melanaphis sacchari* en bioensayos en dieta artificial de extracto y fracciones de tallos de *Serjania schiedeana*.

Tratamientos	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)		
		24 h	48 h	72 h
Extracto de metanol	10,000	26 \pm 1.9 ^b	50 \pm 1.7 ^{bc}	76 \pm 1.4 ^b
	5,000	18 \pm 1.0 ^{bc}	30 \pm 0.9 ^{cd}	54 \pm 1.4 ^{bc}
	2,500	12 \pm 1.0 ^{bc}	24 \pm 1.4 ^d	34 \pm 1.5 ^{cd}
	1,000	0 \pm 0 ^c	18 \pm 1.2 ^{de}	28 \pm 1.3 ^{cd}
Fracción acuosa	10,000	20 \pm 1.2 ^{bc}	54 \pm 0.8 ^b	82 \pm 1.6 ^a
	5,000	12 \pm 0.8 ^{bc}	48 \pm 0.8 ^{bc}	56 \pm 1.3 ^{bc}
	2,500	6 \pm 0.5 ^{bc}	30 \pm 1.0 ^{cd}	36 \pm 0.5 ^{cd}
	1,000	4 \pm 0.5 ^c	20 \pm 1.0 ^{de}	34 \pm 0.8 ^{cd}
Fracción acetato de etilo	10,000	20 \pm 0.6 ^{bc}	34 \pm 0.5 ^{bcd}	46 \pm 0.5 ^{cd}
	5,000	14 \pm 1.2 ^{bc}	32 \pm 1.2 ^{bcd}	38 \pm 1.2 ^{cd}
	2,500	8 \pm 0.7 ^{bc}	20 \pm 0.6 ^{de}	28 \pm 1.0 ^{cd}
	1,000	0 \pm 0 ^c	14 \pm 1.0 ^{de}	18 \pm 1.0 ^{de}
Control negativo	0	0 \pm 0 ^c	0 \pm 0 ^e	4 \pm 0.5 ^e
Imidacloprid	10,000	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a	100 \pm 0 ^a

Las medias en cada columna con una letra diferente fueron significativamente diferentes, prueba de comparación múltiple de Tukey ($P \leq 0.05$).

Tabla 14. Concentración letal media (CL₅₀ y CL₉₀) e intervalos de confianza de la fracción acuosa en bioensayos en dieta artificial de *Serjania schiedeana*.

Tratamiento	CL ₅₀	Intervalo de Confianza		CL ₉₀	Intervalo de Confianza	
		Inferior	Superior		Inferior	Superior
Fracción acuosa	3,373	2,228	4,869	28,877	14,908	126,200



Debido a que la fracción acuosa de tallos de *S. schiedeana* logró el porcentaje de mortalidad más alto en bioensayos en dieta artificial (82%) y una CL_{50} de 3,373 ppm se estudió más a fondo para conocer el/los compuestos presentes en la fracción acuosa. Métodos fitoquímicos clásicos de la fracción acuosa de tallos de *S. schiedeana* indicaron una presencia débil de flavonoides y una fuerte presencia de alcaloides y taninos (tabla 15). Los metabolitos secundarios presentes en la fracción acuosa pueden estar relacionados con el efecto afidicida contra *M. sacchari*.

La figura 20 muestra el cromatograma de HPLC de comparación directa entre un compuesto estándar de proantocianidina (Fig. 20A) epicatequina-(4 β o8)-epicatequina-(4 β o 8, 2 β o O o 7) (Fig. 19), previamente aislado de esta especie vegetal (Salinas-Sánchez *et al.*, 2017), con la fracción acuosa de tallos de *Serjania schiedeana* (Fig. 20B). La comparación mostró un compuesto principal con un tiempo de retención de 8.8 minutos y una absorbancia en el rango ultravioleta de 218 a 279 nm. Los compuestos se observaron en la fracción acuosa.



Tabla 15. Grupos de metabolitos secundarios presentes en la fracción acuosa de tallos de *Serjania schiedeana*.

Grupos de metabolitos	Ensayo	Resultados	Reacción observada
	Reactivo de Wagner	+++	Cambio de color a café
Alcaloides	Reactivo de Mayer	+	Cambio de color a amarillo y precipitación
	Reactivo de Dragendorff	+	Cambiator de color a marrón y precipitación
Cumarinas	Prueba de fluorescencia en papel de filtro	-	Fluorescencia amarilla
Flavonoides	Adición de Mg y HCl	+	El color cambia de amarillo a color rojo después de 24 horas
Taninos	Cloruro férrico	+++	Halo color verde
	Solución de gelatina	+	Precipitado blanco
	Gelatina y solución salina	+	Precipitado blanco
	Solución salina	-	-
Saponinas	Formación de espuma	-	Formación de espuma persistente
Triterpenos y/o esteroides	Reactivo de Liberman-Burchard	-	Cambio de color a verde, azul o rojo
	Reactivo de Salkowski	-	Precipitado con cambio de color a naranja
Derivados del antraceno	5% NaOH	-	
	0.5% Acetato de Mg	-	Cambio a coloración rojiza

(-) no detectado, (+) Prueba positiva débil, (++) Prueba positiva, (++++) Prueba positiva fuerte



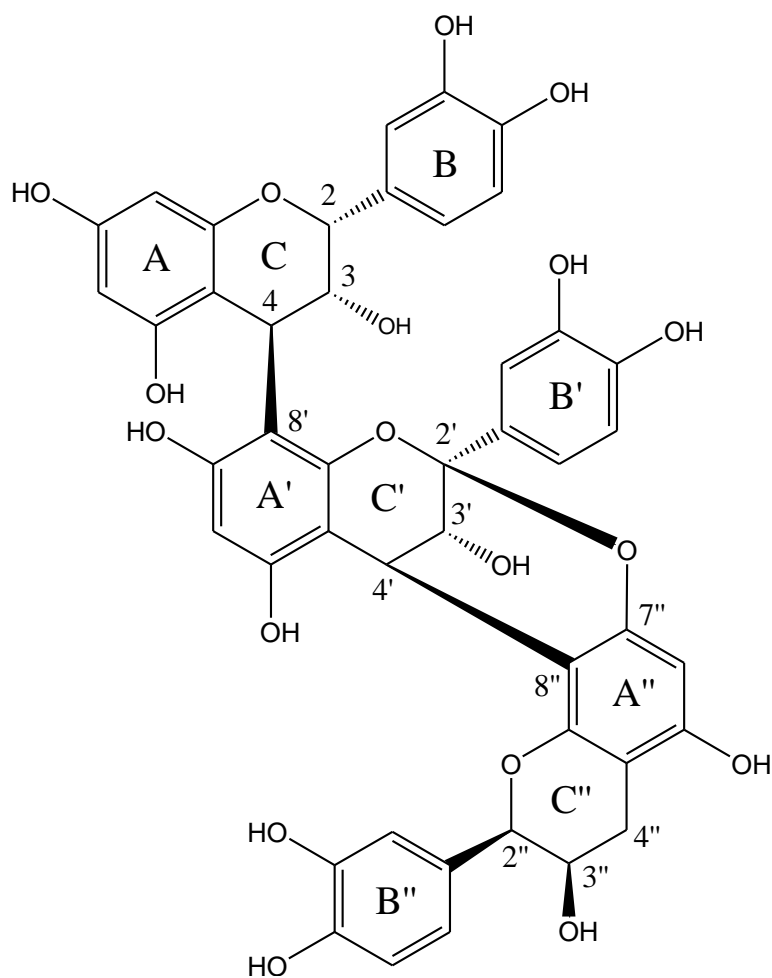


Figura 19. Estructura química de epicatequin – (4 β \rightarrow 8) –epicatequin – (4 β \rightarrow 8, 2 β \rightarrow O \rightarrow 7), identificada en la fracción acuosa de tallos de *Serjania schiedeana*.



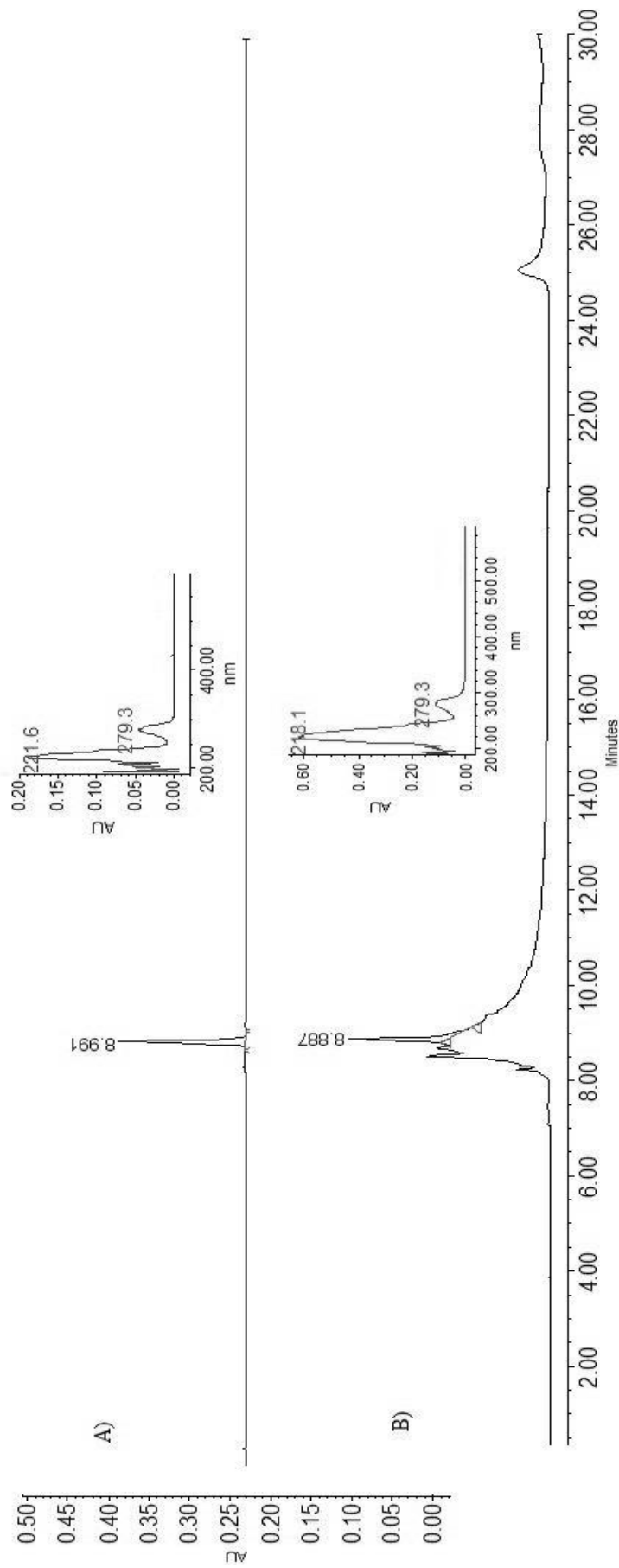


Fig. 20. Cromatograma de HPLC y espectros UV: A) estándar de una proantocianidina; epicatechin – (4 β → 8) – epicatechin – (4 β → 8, 2 β → O → 7) y B) extracto completo de fracción acuosa de tallos de *Serjania schiedeana*.

La fracción acuosa de tallos de *S. schiedeana* presentó un efecto insecticida importante, comparable estadísticamente con el control positivo. La mayoría de las investigaciones de actividad insecticida frente a áfidos con extractos botánicos es mediante bioensayos de contacto. Estudios realizados por Asiry (2015) con el áfido *Rhopalosiphum padi* L. (Hemiptera: Aphididae) utilizando extractos acuosos de diferentes partes de *Citrullus colocynthis* (Cucurbitales: Cucurbitaceae), reportó que los extractos acuosos de los tallos fueron los que presentaron un mayor porcentaje de mortalidad del 75% a 100,000 ppm, en nuestra investigación la fracción acuosa de *S. schiedeana* mostró un efecto insecticida del 82% a una concentración de 10,000 ppm. Se ha reportado que las infusiones de *Polygonum hydropiper* L. y *Azadirachta indica* A. Juss cuentan con un potencial afidicida contra *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) entre un 87.6-94.5% de mortalidad (Das et al., 2008). En nuestro trabajo también se presentaron mortalidades similares que variaron de acuerdo al tiempo de exposición entre 36-82% en diferentes concentraciones. Por otro lado, Moawad y Al-Barty (2011) realizaron un estudio de plantas medicinales y ornamentales de extractos de etanol y agua, frente al áfido de la granada *Aphis punicae* Passerini (Hemiptera: Aphididae), demostrando que los extractos de etanol de *Ruta chalepensis* L. cuentan con un efecto repelente (75%) e insecticida (79.5%) a una concentración del 0.015%. En nuestros bioensayos de ingesta también se demuestra que los extractos de polaridad alta son efectivos. En otra investigación Kim et al. (2005) evaluaron extractos metanólicos de 28 muestras de 22 especies de plantas contra diversos insectos, incluyendo a los áfidos *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) y *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae), los extractos de las hojas de *Ficus carica*



L. y frutos de *Gardenia jasminoides* J. Ellis cuentan con un potente efecto insecticida con porcentajes de supervivencia de 2.4% contra los dos áfidos. Pavela *et al.*, (2009) probaron el efecto de extractos metanólicos contra *Myzus persicae*, demostrando que el extracto más activo fue el de *Impatiens parviflora* DC. con 99.7 y 90.0% de mortalidad a las 54 h de exposición en concentraciones de 0.5 y 0.1 %, respectivamente. Los resultados de nuestra investigación a concentraciones de 5000 ppm (= 0.5%) logró una mortalidad del 56% en 72 h.

Hasta el momento no se encontraron reportes en la bibliografía de la actividad insecticida de *Serjania schiedeana* contra áfidos. Se han reportado escasos estudios de sustancias aisladas de plantas de la familia Sapindaceae contra áfidos. Díaz *et al.*, (2015) reporta que un extracto etanólico foliar de *Dodonaea viscosa* mostró actividad disuasoria contra dos especies de áfidos *Rhopalosiphum padi* y *Myzus persicae*; Lupeol, Stigmasterol y Stigmast-1-en-3-ol fueron aislados, los compuestos 1 y 3 fueron activos contra *M. persicae* y el compuesto (3) tuvo actividad con ambos áfidos. Otro estudio fitoquímico de una Sapindaceae *Allophylus edulis* (A. St.-Hil.) (extracto etanólico de ramas) produjo el aislamiento de varios productos naturales de los cuales el 6,7-epoxycaryophyllene, lupeol y β -sitosterol demostraron ser repelentes contra *M. persicae*. (Díaz *et al.*, 2014).

El estudio fitoquímico de la fracción acuosa de *S. schiedeana* reveló la presencia de alcaloides, flavonoides y taninos, confirmándose con el análisis de HPLC a los principales constituyentes químicos en la fracción acuosa, quienes fueron identificados como proantocianidinas. Estos compuestos fenólicos han presentado actividad biológica frente a insectos, como por ejemplo, Muema *et al.* (2016) identificaron a las proantocianidinas como componentes principales en el extracto



metanólico de *Camellia sinensis* (Theaceae) la cual logró una mortalidad larvaria del 100% a 25 ppm, contra *Anopheles arabiensis* y *A. gambiae*. En nuestra investigación, también fueron detectadas proantocianidinas en la fracción acuosa de *S. schiedeana*, la cual logró una mortalidad del 82% contra *M. sacchari*.



CONCLUSIONES

- Se aisló un compuesto de tipo flavonoide llamado rutina en la fracción activa del extracto de metanol de las hojas de *Dodonaea viscosa*.
- La fracción activa rica en rutina presentó un efecto afidicida contra *M. sacchari* en bioensayos en dieta artificial.
- Rutina presentó una mortalidad del 62% en bioensayos en dieta artificial contra *M. sacchari*.
- Se identificó en la fracción activa del extracto de *n*-hexano de las hojas de *Ricinus communis* a dos ácidos grasos (mirístico y esteárico),
- El extracto de *n*-hexano y los dos ácidos grasos presentaron un efecto afidicida importante en bioensayos de contacto.
- Se identificó en la fracción acuosa de *Serjania schiedeana* a una proantocianidina como compuesto mayoritario, el cual cuenta con actividad afidicida contra *M. sacchari*.
- La fracción acuosa de *Serjania schiedeana* mostró un efecto afidicida contra *M. sacchari* en bioensayos en dieta artificial.
- Con los resultados obtenidos se puede concluir que el los extractos de baja polaridad son los responsables de la actividad afidicida en bioensayos de contacto, los extractos de intermedia y alta polaridad mostraron un menor efecto.
- Los extractos de polaridad alta presentaron una mayor actividad afidicida en bioensayos en dieta artificial, en contraste con los extractos de polaridad intermedia y baja quienes presentaron una menor actividad afidicida.



- Si bien ya se ha descrito el efecto insecticida de *D. viscosa* y de *R. communis*, este es el primer reporte que indica el potencial afidicida contra *M. sacchari* de estas especies vegetales.
- Este trabajo de investigación, reporta por primera vez el efecto insecticida de *S. schiedeana*.
- Esta investigación apoya el uso de *D. viscosa*, *R. communis* y *S. schiedeana* y sienta las bases para sean tomadas en cuenta en el control integrado de plagas.



PERSPECTIVAS

- Continuar con el estudio químico de *D. viscosa* y *R. communis*, con la finalidad de aislar otros posibles compuestos con actividad afidicida.
- Realizar un fraccionamiento químico que permita aislar otros productos naturales presentes en las especies vegetales y de las sub-fracciones que presentan actividad afidicida.
- Realizar un estudio químico biodirigido a *Serjania schiedeana*, especie que presenta una importante actividad afidicida y de la cual no hay reportes en la literatura de esta actividad biológica.
- Promover el desarrollo de un insecticida botánico eficaz de estas especies vegetales contra *M. sacchari*.
- Evaluar el efecto afidicida de extractos, fracciones y/o compuestos puros de las tres especies vegetales en bioensayos en invernadero o campo, para conocer su potencial en condiciones no controladas.



REFERENCIAS

- Abay G**, Karakoç ÖC, Tüfekçi AR, Koldaş S, Demirtas I. (2012). Insecticidal activity of *Hypnum cupressiforme* (Bryophyta) against *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*. 51:6-10.
- Aguado-Santacruz G**, Quintín Rascón C, Pons JL, Grageda O, García E. (2004). Manejo Biotecnológico de Gramíneas Forrajeras. *Técnica Pecuaria en México*. 42(2): 261-276.
- Akkol EK**, Süntar I, Keles H, Sezik E, Gürler G. (2015). Bioassay-guided isolation and characterization of wound healer compounds from *Morus nigra* L. (Moraceae). *Records of Natural Products*. 9: 484-495.
- Albert LA**. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. Servicios de Salud de Nayarit y Comisión Federal de Protección Contra Riesgos Sanitarios. *Revista de Toxicología*. En línea disponible: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd56/panorama.pdf>.
- Ansante TF**, Ribeiro LP, and Vendramim JD. (2017). Acute and chronic toxicities of an annonin-based commercial bioinsecticide and a joint mixture with a limonoid-based formulation to the fall armyworm. *Neotropical Entomologist*. 46: 216-222.
- Armstrong JS**, Rooney WL, Peterson GC, Villanueva RT, Brewer MJ, Sekula-Ortiz D. (2015). Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): host range and



sorghum resistance including cross-resistance from greenbug sources. *Journal of Economic Entomology*. 108: 576–582.

Arya H, Sing BR, Singh K. (2014). Insecticidal activity of petroleum ether extract of castor seeds against mustard aphid *Lipaphis erysimi* Kaltenbach. *Advances in Bioresearch*. 5: 165-168.

Asiry KA. (2015). Aphidicidal activity of different aqueous extracts of bitter *Appleitrullus colocynthis* (L.) against the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: Aphididae) under laboratory conditions. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 25(2): 456-462.

Ateyyat MA, and **Abu-Darwish MS**. (2009). Short communication. Insecticidal activity of different extracts of *Rhamnus dispermus* (Rhamnaceae) against peach trunk aphid, *Pterochloroides persicae* (Homoptera: Lachnidae). *Spanish Journal of Agricultural Research*. 7: 160-164.

Bataglion GA, da Silva FMA, Santos JM, dos Santos FN, Barcia MT, Lourenço CC, Salvador MJ, Godoy HT, Eberlina MN, Koolen HHF. (2014). Comprehensive characterization of lipids from Amazonian vegetable oils by mass spectrometry techniques. *Food Research International*. 64: 472–481.

Blackman RL and **Eastop VF**. (2015). Aphids on the World's Plants. An Online Identification and Information Guide. <http://www.aphidsonworldsplants.info>. Consultada en marzo de 2017.



- Blackman** RL, Eastop VF, and Brown PA. (1990). The biology and taxonomy of aphids transmitting barley yellow dwarf virus, pp. 197-214. In O. A. Burnett [ed.], *World Perspectives of Yellow Dwarf Virus*. CIMMYT, México.
- Bowling** RD, Brewer MJ, Kerns DL, Gordy JN, Seiter NE, Elliott NM, Buntin GD, Way MO, Royer TA, Biles S, Maxson E. (2016). Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): a new pest on sorghum in North America. *Journal of Integrated Pest Management*. 7: 1-13.
- Brey** TP, Ohayon H, Lesourd M, Castex H, Roucachet J, Latge JP. (1985). Ultrastructure and chemical composition of the outer layers of the cuticle of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 82: 401-411.
- Brousalis** AM, Clemente S, Ferraro GE. (2010). *Hybanthus parviflorus* (Violaceae): Insecticidal activity of a South American plant. *Crop Protection*: 29: 953-956.
- Bueno** G, Cordovés M, Delgado G. (2009). Sorgo dulce: sus potencialidades productivas. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. XLIII (3): 15-21.
- Cao** S, Brodie P, Callmender M, Randrianaivo R, Razafitsalama J, Rakotobe E, Rasamison VE, TenDyke K, Shen Y, Suh EM, and Kingston DG. (2009). Antiproliferative Triterpenoid Saponins of *Dodonaea viscosa* from the Madagascar Dry Forest. *Journal of Natural Products*. (72):1705–1707.



- Cartaya O** y Reynaldo I. (2001). Flavonoides características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*. 22(2): 5-14.
- Celis A.**, Mendoza C. y Marcos P. (2008). Extractos vegetales utilizados como biocontroladores. *Agronomía Colombiana*, 26(1): 97-106.
- Chaves-Bedoya G**, y Ortiz-Rojas LY. (2012). Evidencias de orígenes filogenéticos diferentes de dos aislamientos mexicanos del virus del mosaico del tabaco de la caña de azúcar (SCMV). *Acta Agronómica*. 61(1): 79-87.
- Chuck-Hernández C**, Pérez-Carrillo E, Heredia-Olea E, Serna-Saldívar S. (2011). El sorgo un cultivo multifacético para la producción de bioetanol en México: Tecnologías, avances y áreas de oportunidad. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10(3): 529-549.
- Cronquist A.** (1981). An integrated system of classification of flowering plant. Colombia University Press. Colombia. 58.
- Das BC**, Sarker PK, Rahman MM. (2008). Aphidicidal activity of some indigenous plant extracts against bean aphid *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae). *Journal of Pest Science*. 81(3): 153-159.
- De Araújo Silva MM**, Cursino dos Santos DYA, Melo-de-Pinna GFA, Rangel Câmara TJ, Oliveira AFM. (2017). Chemical composition and ultrastructure of the foliar cuticular wax of two Brazilian cultivars of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products* 95: 558–563.



- De Oliveira** DM, Siqueira EP, Nunes YRF, Cota BB. (2013). Flavonoids from leaves of *Mauritia flexuosa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 23: 614-620.
- De Souza-Schneider** RC, Pons EL, Silva-Lara LR, Matte-Alves D, Bastos-Caramão E, Martinelli M. (2007). Componentes minoritários presentes em óleo de mamona (*Ricinus communis* L.). *TECNO-LÓGICA* 11: 41-46.
- Delgado-Ramírez** C, Salas-Araiza M, Martínez-Jaime OA, Díaz-García JA, Guzmán-Mendoza R, Salazar-Solís E. (2016). Consumption of *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) by *Hippodamia convergens* (Coleoptera: coccidellidae) and *Chrysoperla carnea* (Neuroptera:Chrysopidae). *Entomología Agrícola*. 369-374.
- Devanand** P, and Rani PU. (2008). Biological potency of certain plant extracts in management of two lepidopteran pests of *Ricinus communis* L. *Journal of Biopesticides* 1: 170-176.
- Devine** G, Eza D, Ogusuku E, Furlong M. (2008). Uso de insecticidas: Contexto y consecuencias ecológicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25(1): 74-100.
- Díaz** M, Castillo L, Díaz CE, Álvarez RG, González-Coloma A, Rossini C. (2014). Differential deterrent Activity of natural products isolated from *Allophylus edulis* (Sapindaceae). *Advances in Biological chemistry*. 4: 168-179.
- Díaz** M, Díaz CER. Álvarez G, González AL, Castillo A, González-Coloma G, Rossini G. (2015). Differential anti-insect activity of natural products isolated



from *Dodonaea viscosa* Jacq. (Sapindaceae). *J. Plant Protection Res.* 55: 173-178.

Do-Ik K, Jong-Dae P, Seon-Gon K, Hyun K, Mi-Soon J, Sang-Soo K. (2005). Screening of some crude plant extracts for their acaricidal and insecticidal efficacies. *Journal Asia-Pacific Entomology.* 8: 93-100.

Domínguez C. (2015). *La unión de Morelos.* En línea disponible: <http://www.launion.com.mx/morelos/zona-sur/noticias/76709-p%C3%A9rdida-total,-500-hect%C3%A1reas-de-sorgo-y-ma%C3%ADz-por-plaga-del-pulg%C3%B3n-amarillo.html>. 19 Febrero 2016.

Eddaya T, Boughdad A, Sibille E, Chaimbault P, Zaid A, Amechrouq A. (2013). Biological activity of *Sapindus mukorossi* Gaerten (Sapindaceae) aqueous extract against *Thysanoplusia orichalcea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Industrial Crops and Products.* 50: 325-332.

El-Naggar MH, Elgaml A, Abdel Bar FM, Badria FA. (2018). Antimicrobial and antiquorum-sensing activity of *Ricinus communis* extracts and ricinine derivatives. *Natural Product Research,* 1-7.

Escobar-Castillejos D, Caballero-Roque A, Rendón-Von Osten J. (2011). Prácticas de utilización para plaguicidas en la localidad de la Nueva Libertad, La Concordia, Chipas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 1: 19-30.

FINA (2016). Panorama alimentario del sorgo. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. 1-34.



- Gilden** RC, Huffling K, Saltler B. (2009). Pesticides and Health Risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic and Neonatal Nursing*. 39: 103-110.
- Gilstrap** FE. (1980). Biological control of sorghum pests. In: Teetes, G.L., Jotwani, M.G. (Eds.). Elements of Integrated Control of Sorghum Pests. Plant Protection Service, Plant Production and Protection Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 54-98.
- Giraldo-Cañas** D. (2011). Catálogo de la familia Poaceae en Colombia. *Darwiniana*. 49(2): 139-247.
- Halbert** SE, Remaudière G, Webb SE. (2000). Newly established and rarely collected aphids (Homoptera: Aphididae) in Florida and the southern United States. *Florida Entomologist*. 83: 79-91.
- Hall** DG. (1987). The sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner), in Florida sugarcane. *J. Am. Soc. Sugarcane Technol.* 7: 26-29.
- Harborne** JB. (1973). Phytochemical Methods, a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Chapman, London.
- Harris-Shultz** K, Xinzhi N, Wadl PA, Xinwang W, Wang H, Huang F, Flanders K, Seiter N, Kerns D, Meagher R, Xue Q, Reisig D, Buntin D, Cuevas HE, Brewer MJ, and Yang X. (2017). Microsatellite Markers Reveal a Predominant Sugarcane Aphid (Homoptera: Aphididae) Clone is Found on Sorghum in Seven States and One Territory of the USA. *Crop Science*. 57: 2064-2072.



- Hernández-Torres I**, López-Arroyo JI, Berlanga-Padilla A, Loera-Gallardo J, Acosta-Díaz E. (2006). Efectividad de hongos entomopatógenos y vehículos de aplicación para el control del pulgón café de los cítricos *Toxoptera citricida* kirkaldy (Homoptera: Aphididae). *Vedalia*. 13(1): 17-26.
- Herrera Y**, y **Cortés A**. (2009). Diversidad de las Gramíneas de Durango, México. *Polibotanica* (28): 49-68.
- Hewage CM**, Bandara KANP, Karunaratne V, Bandara BMR, Wijesundara DSA. (1997). Insecticidal activity of some medicinal plants of Sri Lanka. *J. Natn. Sci. Coun. Sri Lanka*. 25(3): 141-150.
- Hsü HY**, and **Chen YP**. (1971). Structure of Hautriwaic acid. *Phytochemistry*. 10: 2813-2814.
- Huerta-Rodríguez JO**, Huerta-de la peña A, Aragón-García A, Carmona-Fernández C. (2018). Consumption and developmental capacity of *Chrysoperla carnea* (Stephens) on the sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari* Zehntner) in Puebla, Mexico. *Southwestern Entomologist*. 43: 417-432.
- Jena J**, and **Gupta AK**. (2012). *Ricinus communis* Linn: A Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(4): 975-1491.
- Kim D**, Park JD, Kim SG, Kuk H, Jang MS, Kim SS. (2005). Screening of some crude plant extracts for their acaricidal and insecticidal efficacies. *Journal Asia-Pacific Entomologist*. 8: 93-100.



- Laguna E, y Sánchez JM.** (2009). *Dodoneae viscosa* Jacq. (Sanpindaceae), novedad florística para la península ibérica. *Flora Montiberica.* (43): 3-7.
- Lawal D, and Yunusa I.** (2013). *Dodoneae viscosa* Linn: Its Medicinal, Pharmacological and Phytochemical Properties. *International Journal of Innovation and Applied Studies.* 2(4): 476-482.
- Lienard V, Seck D, Lognay G, Gaspar C, Severin M.** (1993). Biological activity of *Cassia occidentalis* L. against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research.* 29(4): 311-318.
- Lock O.** (1994). Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Fondo editorial de la Pontifica Universidad Católica del Perú PUEP Lima, Lima (Perú).
- López-Gutiérrez DR, Salas-Aranza MD, Martínez-Jaime OA, Salazar-Solís E.** (2016). Géneros de Aphididae (Hymenoptera) parasitando al pulgón amarillo de la caña de azúcar, en Irapuato, Guanajuato, México. *Entomología Agrícola:* 2448-2475.
- Maldonado A, Ortiz S, Dorado O,** (2004). Preparados Galénicos e Imágenes de Plantas Medicinales, Una alternativa para promotoras de la salud en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla, Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 7-11.



- Maldonado AB.** (1997). Aprovechamiento de los Recursos Florísticos de la Sierra de Huautla, Morelos. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias; UNAM. México D. F.
- Maya-Hernández V, y Rodríguez del Bosque LA.** (2014). Pulgón amarillo: una nueva plaga del sorgo en Tamaulipas. SAGARPA, INIFAP. Campo experimental Río Bravo, Tamaulipas.
- Medrzycki P, Montanari R, Bortolotti L, Sabatini AG, Maini E, Porrini C.** (2003). Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. *Bulletin of Insectology.* (56): 59–62.
- Miranda F, y Hernández E.** (1963). Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín Sociedad Botánica México* 28: 29-179.
- Moawad SS, and Al-Barty AMF.** (2011). Evaluation of some medicinal and ornamental plant extracts toward pomegranate aphid, *Aphis punicae* (Passerini) under laboratory conditions. *African Journal of Agricultural Research.* 6(10): 2425-2429.
- Monroy OC, y Castillo EP.** (2007). Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. 2a Edición CONABIO.
- Muema JM, Bargul JL, Nyanjom SG, Mutunga JM, Njeru SN.** (2016). “Potential of *Camellia sinensis* proanthocyanidins-rich fraction for controlling malaria mosquito populations through disruption of larval development”. *Parasites & Vectors.* 9: 1-10.



- Müller** N, Faria X, Facchini LA, Gastal A, Tomasi E. (2005). Pesticides and Respiratory Symptoms Among Farmers. *Revista de saúde pública*. 39(6): 973-981.
- Nava-Pérez** E, García-Gutiérrez C, Camacho-Báez JR, Vázquez-Montoya EL. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*. 8(3b): 17-29.
- Nia** B, Frah N, and Azoui I. (2015). Insecticidal activity of three plants extracts against *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) and their phytochemical screening. *Acta agriculturae Slovenica*. 105(2): 261-267.
- Nia** RP, Devakumar C, and Dhingra S. (1988). Activity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed kernel extracts against the mustard aphid, *Lipaphis erysimi*. *Phytoparasitica*. 16(3): 225-230.
- Nibouche** S, Fartek B, Mississippi S, Delatte H, Reynaud B, Coset L. (2014). Low genetic diversity in *Melanaphis sacchari* aphid. *PloS One* (9): 1-10.
- Ofuya**, TI, and IE **Okuku**. (1994). Insecticidal effect of some plant extracts on the cowpea aphid *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae). *Journal Pest Science*. 67: 127-129.
- Ogunwande** IA, Osunsam AA, Sotubo, SE, Lawal OA. (2017). Chemical constituents and insecticidal activity of essential oil of *Paullinia pinnata* L (Sapindaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 16(5): 455-462.



- Olaifa** JI, Matsumura F, Zeevaart JAD, Mullin CA, Charalambous P. (1991). Lethal amounts of ricinine in green peach aphids (*Myzus persicae*) (Suzler) fed on castor bean plants. *Plant Sci.* 73: 253-256.
- Ortiz** J, Tun J, Toledo M. (2010). Diversidad de Gramíneas en la Península de Yucatán. *Bioagrociencias* 3(2): 22-27.
- Otiniano** G. y **Roldán** J. (2014). Actividad repelente y tiempo de protección experimental del aceite del endospermo de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) en *Aedes aegypti*. *Revista Científica de Estudiantes.* 2(2): 35.
- Patterson** R, y **Ramírez** R. (2016). Aphid Natural Enemies and Biological Control. *Published by Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory.*
- Pavela** R, Vrchatová N, Sera B. (2009). Repellency and toxicity of three Impatiens species (Balsaminaceae) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *Journal of Biopesticides* 2: 48-51.
- Peña-Martínez** R, Muñoz AL, Ramos MG. (2015). Listado de plantas hospedantes del complejo *Melanaphis sacchari/sorghii* (Hemiptera: Aphididae), registros internacionales y potenciales. *Entomología Mexicana* (2): 582-587.
- Peña-Martínez** R, Muñoz-Viveros AL, Bujanos-Muñiz R, Luévano-Borroel J, Tamayo-Mejía F, Cortez-Mondaca E. (2016). Formas sexuales del complejo



pulgón amarillo del sorgo, *Melanaphis sacchari/sorghii* en México. *Southwestern Entomologist*. 41(1): 127-132.

Pengelly A. (2008). Medicinal Activity of *Dodonaea viscosa*. A Preliminary Study; RIRDC: Newcastle, Australia, Available online: <http://> (accessed on 14 June 2016).

Perales-Rosas DD, Guillén-Sánchez V, López-Martínez M, Andrade-Rodríguez I, Alia-Tejacal R, Hernández-Pérez P. (2017). Comportamiento de híbridos de *Sorghum bicolor* (L.) Moench, frente a *Melanaphis sacchari/sorghii* en el Estado de Morelos, México. *Southwestern Entomologist*. (42): 815-820.

Peres F, Costa J, Meneses K, Lerner R, Claudio L. (2007). The use of pesticides in agriculture and rural worker`s health and Brazil. *Ciencia y Trabajo*. 9(6): 158-163.

Quintana de Oliveira S, Rojo de Almeida MT, Maraslis F, Thaís SI, Marques STC, Palermo JA, Cabrera GM, Soriano BCM, Oliveira SCM, Schenkel EP. (2012). Isolation of three new *ent*-labdane diterpenes from *Dodonaea viscosa* Jacquin (Sapindaceae): Preliminary evaluation of antiherpes activity. *Phytochemistry Letters*. 5:500-505.

Raja M, and **Suresh M.** (2017). Evaluation of Larvicidal Activity of *Sapindus Emargintus* (Family: Sapindaceae) Leaf Extracts against the Housefly Larvae (*Musca domestica*) LINN. *International Journal of Science and Research*. 6(2): 200-205.



- Ramachandra S.** and **Ravishankar GA.** (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 20: 101-153.
- Ramírez-Dávila JF.** y **Pérez J.** (2008). Utilización del Chapulixtle (*Dodonaea viscosa*) en los procesos agrícolas de la comunidad del progreso Hidalgo, Estado de México. *Revista de Geografía Agrícola*. 40: 19-25.
- Ramos-López MA,** **González-Chávez MM,** **Cárdenas-Ortega NC,** **Zavala-Sánchez MA,** **Pérez S.** (2012). Activity of the main fatty acid components of the hexane leaf extract of *Ricinus communis* against *Spodoptera frugiperda*. *African Journal of Biotechnology*. 11: 4274-4278.
- Rana M,** **Dhamija H,** **Prashar B,** **Sharma S.** (2012). *Ricinus communis* L.-A. Review. *PharmaTech*. 4(4): 1706-1711.
- Remaudière G,** and **Remaudière M.** (1997). Catalogue des Aphididae du Monde. (Homoptera: Aphidoidea). Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- Ribeiro PR,** **de Castro RD,** **Fernández LG.** (2016). Constituents of the oilseed crop *Ricinus communis* and their pharmacological activities: A review. *Industrial Crops and Products*. (91): 358-376.
- Robinson DR,** and **West CA.** (1970). Biosynthesis of cyclic diterpenes in extracts from seedlings of *Ricinus communis* L. I. identification of diterpene hydrocarbons formed from mevalonate. *Biochemistry*. 90: 70-79.



- Rodríguez S**, Regonat M, Carrizo P, Meilan J, Wagner M, Gurni A. (2012) Activity of nonpolar extracts from *Picrasma crenata* (Simaroubaceae) against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Rev. Latinoamer. Quím.* 39(3): 113-120.
- Sachdev K**, and **Kulshreshtha DK**. (1983). Flavonoids from *Dodonaea viscosa*. *Phytochemistry.* (22):1253-1256.
- Sachdev K**, and **Kulshreshtha DK**. (1986). Viscosol, a C3' prenylated flavonoid from *Dodonaea viscosa*. *Phytochemistry.* (25):1967-1969.
- SAGARPA-SIAP**. (2014). Producción agropecuaria y pecuaria. En línea disponible: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>.
- Salas-Marina MA**, Hernández-García V, Ríos-Velasco C, Lule-Chávez N, Mauricio-Castillo JA, y Chavez-Hernández MH. (2017). *Melanaphis sacchari*, a New Pest of *Sorghum halepense* at Chiapas, México, and Its Predators. *Southwestern Entomologist.* 42(2): 401-404.
- Salinas-Sánchez D**, Jiménez-Ferrer E, Sánchez-Sánchez V, Zamilpa A, González-Cortazar M, Tortoriello J, and Herrera-Ruiz M. (2017). Antiinflammatory activity of a polymeric proanthocyanidin from *Serjania schiedeana*. *Molecules.* (22): 1-19.
- Sánchez-Ken J**, y **Cerros-Tlatilpa R**. (2016). Listado Florístico de la Familia Poaceae del Estado de Morelos, México. *Revista Botánica Mexicana.* (116): 65-115.



- Sandhya M, Pippalla R, Mohan K.** (2009). *Dodonaea viscosa* Linn. An Overview. *JPRHC*. 1(1): 97-112.
- SAS** Institute. (2002). SAS System for Windows release 9.0. SAS Institute, Cary, NC.
- Schenck S, and Lehrer AT.** (2000). Factors affecting the transmission and spread of sugarcane yellow leaf virus. *Plant Disease*. (84): 1085-1088.
- SENASICA.** (2014). *Pulgón amarillo Melanaphis sacchari* (Zehntner). Ficha técnica No. 43. SAGARPA, México, D. F. (15): 1-15.
- SENASICA.** (2015). Manual de plagas y enfermedades del sorgo. *Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato A.C. (CESAVEG), SAGARPA.*
- Sepúlveda-Jiménez G, Porta Ducoing H, Rocha Sosa MG.** (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(3): 355-363.
- Sharma A, and Gupta R.** (2009). Biological activity of some plant extracts against Pierisbrassicae (Linn.). *J. Biopest*. 2: 26-31.
- Silva AG, Lagunes TA, Rodríguez MJC, y Rodríguez LD.** (2002). Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología*.66: 4-12.



- Singh** BU, Padmaja PG., Seetharama N. (2004). Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. *Crop Protection*. 23(9): 739-755.
- Singh** PP, Ambika, Chauhan SMS. (2009). Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L. *Food Chemistry*. 114(3): 1069-1072.
- Stahl** E. (1973). Drug analysis by chromatography and microscopy. Agris Records, FAO, USA.
- Sturtevant** D, Romsdahl TB, Yu XH, Burks DJ, Azad RK, Shanklin J, Chapman K D. (2019). Tissue-specific differences in metabolites and transcripts contribute to the heterogeneity of ricinoleic acid accumulation in *Ricinus communis* L. (castor) seeds. *Metabolomics*. 15(1): 1-14.
- Sunkanmi** ES, Oladipupo AL, Adesola AO, Asiaka AO. (2016). Constituents and Insecticidal Activity of *Deinbollia pinnata* Essential Oil. 11(12): 1889-1890.
- Sy Mohamad** SF, Mohamad S, Aziz AA. (2013). The susceptibility of aphids, *Aphis gossypii* Glover to lauric acid based natural pesticide. *Procedia Eng*. 53: 20–28.
- Tejeda-Reyes** MA, Díaz-Nájera JF, Rodríguez-Maciel JC, Vargas-Hernández M, Solís-Aguilar JF, Ayvar-Serna S, Flores-Yañez JA. (2017). Evaluación en campo de insecticidas sobre *Melanaphis sacchari* (Zehntner) en sorgo. *Southwestern Entomologist*. (42): 545–550.



- Tejeda-Reyes** MA, Díaz-Nájera JF, Rodríguez-Maciel JC, Vargas-Hernández M, Solís-Aguilar JF, Ayvar-Serna S, Flores-Yañez JA. (2017). Evaluación en campo de insecticidas sobre *Melanaphis sacchari* (Zehntner) en sorgo. *Southwestern Entomologist*. (42): 545-550.
- Toledo-Hernández** E, Hernández-Velázquez VM, Peña-Chora G. (2018). An artificial diet for the sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari* Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) with potential uses for *in vitro* toxicological studies. *g*. (101): 395-398.
- Tomizawa** M, and Casida JE. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol*. (45): 247-68.
- Valdés Reyna** J. y Dávila P. (1995). Clasificación de los Géneros de Gramíneas (Poaceae) Mexicanas. *Acta Botánica Mexicana*. (33): 37-50.
- Vázquez-Luna** A, Pérez-Flores L, Díaz-Sobac R. (2007). Biomolecules with insecticidal activity an alternative to improve the food safety. *Cien.Tecnol. Aliment*. 5(4): 306-313.
- Villanueva** RT, Brewer MJ, Way MO, Biles S, Sekula D, Bynum E, Swart J, Crumley C, Knutson A, Porter P. (2014). Sugarcane aphid: a new pest of sorghum. Texas A&M Agrilife Extension. Ento-035, College Station, TX. 4 p. (<http://ccag.tamu.edu/sorghum-insect-pests/>).



Wagner H, and S. Blatt. (1996). *Plant Drug Analysis*. Springer, Heilderberg, Germany.

Worbs S, Köhler K, Pauly D, Avondet MA, Schaer M, Dorner MB, Dorner B. (2011). *Ricinus communis* intoxications in human and veterinary medicine-A Summary of real cases. *Toxins*. (3): 1332-1372.

Yucra S, Gasco M, Rubio J, Gustavo F. (2008). Exposición ocupacional al plomo y pesticidas organofosforados: efectos sobre la salud reproductiva masculina. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 25(4): 394-402.

Zimmerman EC. (1948). *Insects of Hawaii. Homoptera: Sternorrhyncha*, Vol. 5. University of Hawaii Press, Honolulu.





Insecticidal Compounds in *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) to Control *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

Authors: Sotelo-Leyva, César, Salinas-Sánchez, David Osvaldo, Peña-Chora, Guadalupe, Trejo-Loyo, Adriana Gabriela, González-Cortázar, Manasés, et. al.

Source: Florida Entomologist, 103(1) : 91-95

Published By: Florida Entomological Society

URL: <https://doi.org/10.1653/024.103.0415>

BioOne Complete (complete.BioOne.org) is a full-text database of 200 subscribed and open-access titles in the biological, ecological, and environmental sciences published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Complete website, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/terms-of-use.

Usage of BioOne Complete content is strictly limited to personal, educational, and non - commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

BioOne sees sustainable scholarly publishing as an inherently collaborative enterprise connecting authors, nonprofit publishers, academic institutions, research libraries, and research funders in the common goal of maximizing access to critical research.

Insecticidal compounds in *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) to control *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae)

César Sotelo-Leyva^{1,5}, David Osvaldo Salinas-Sánchez^{2,*}, Guadalupe Peña-Chora³, Adriana Gabriela Trejo-Loyo³, Manasés González-Cortázar^{4,*}, and Alejandro Zamilpa⁴

Abstract

The sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae), is recognized as an important pest of sorghum cultivation. The use of natural products in the form of botanical extracts represents an alternative for its control. In this investigation, we evaluated the insecticidal activity of hexanic, acetonetic, and methanolic extracts of leaves, fruits, and roots of *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae). These were applied in contact bioassays at different concentrations to control apterous adults of *M. sacchari*. We found that the chemical components of lower polarity contained in the hexane extract of leaves (RcLH) produced the best biological effect, with 96% mortality at 72 h. Thin layer chromatography allowed fractions of this extract to be grouped into 7 categories (F1–F7) based on their chemical content. The F3 category produced 90% mortality at 10,000 ppm at 72 h in contact bioassays. The ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance analysis in addition to the gas chromatography-mass spectrometry of F3 revealed the presence of myristic and stearic acid. Our results showed that the hexanic extracts of *R. communis* and their fatty acids may be an alternative for the development of new insecticides, constituting a better option in terms of effectiveness and lower toxicity compared with the synthetic products currently on the market used for their control.

Key Words: hexane extracts; aphids; myristic acid; stearic acid

Resumen

El pulgón de la caña de azúcar *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae), es reconocido como una plaga importante para el cultivo de sorgo. El uso de productos naturales en forma de extractos botánicos representa una alternativa para su control. En esta investigación, evaluamos la actividad insecticida de los extractos hexánicos, acetónicos, y metanólicos de hojas, frutos y raíces de *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae). Estos se aplicaron en bioensayos de contacto a diferentes concentraciones contra adultos ápteros de *M. sacchari*. Descubrimos que los componentes químicos de menor polaridad contenidos en el extracto de hojas de hexano (RcLH) producían el mejor efecto biológico, con una mortalidad del 96% a las 72 horas. La cromatografía en capa fina permitió que las fracciones de este extracto se agruparan en siete categorías (F1–F7) en función de su contenido químico. F3 produjo 90% de mortalidad a 10.000 ppm a las 72 horas en bioensayos de contacto. El análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) ¹H y ¹³C, además de la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS) de F3 reveló la presencia de ácido mirístico y esteárico. Nuestros resultados mostraron que los extractos hexánicos de *R. communis* y sus ácidos grasos pueden ser una alternativa para el desarrollo de nuevos insecticidas, constituyendo una mejor opción en términos de efectividad y menor toxicidad en comparación con los productos sintéticos actualmente en el mercado.

Palabras Clave: extractos de hexano; áfidos; ácido mirístico; ácido esteárico

Worldwide the USA and Mexico are the most important producers of sorghum (*Sorghum bicolor* [L.] Moench; Poaceae) (FIRA 2016). Historically, this ancient commodity is one of the most important cereals for animal feed (Chuck-Hernández et al. 2011). *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae) is an economically important insect

in many areas of Africa, Asia, Australia, and the Far East, but it is a severe sorghum pest in the USA and Mexico (Singh et al. 2004).

In 1970, *M. sacchari* entered the USA as a pest of sugar cane (Schenck & Lehrer 2000). By 2013, outbreaks of this pest were found in sorghum crops causing economic losses in North America (Arm-

¹Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigación en Biotecnología Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico; E-mail: soteloleyva@hotmail.com (C. S. L.)

²Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad 1001, Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico; E-mail: davidos@uaem.mx (D. O. S. S.)

³Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad 1001, Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico; E-mail: penacg@uaem.mx (G. P. C.), trejoal@uaem.mx (A. G. T. L.)

⁴Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, Argentina 1, Col. Centro, C.P. 62790, Xochitepec, Morelos, Mexico; E-mail: azamilpa_2000@yahoo.com.mx (A. Z.), gmanases@hotmail.com (M. G. C.)

⁵Universidad Autónoma de Guerrero, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Av. Lázaro Cárdenas s/n, Col. Haciendita, CP 39000, Chilpancingo, Guerrero, Mexico; E-mail: soteloleyva@hotmail.com (C. S. L.)

*Corresponding authors; E-mails: davidos@uaem.mx; gmanases@hotmail.com

strong et al. 2015). Although the buds of sugar cane can be infested with *M. sacchari*, no significant damage occurs to that crop (Medina et al. 2017). However, damage to sorghum by this aphid is considerably more serious. About 20 US states and sorghum-producing areas in Mexico have suffered severe damage since the introduction of this pest in 2013 (Bowling et al. 2016; Harris-Shultz et al. 2017). According to Nibouche et al. (2018) the change of host from sugar cane to sorghum may be due to a change in host preference, or the arrival of a new biotype of yellow aphid specializing in sorghum.

In Mexico, chemical insecticides such as neonicotinoids have been used to control this aphid (Tejeda-Reyes et al. 2017). The negative effects of these chemical compounds on human health have been reported (Müller et al. 2005), and they have been implicated in bee colony collapse (Medrzycki et al. 2003). In view of this situation, it is necessary to search for new alternatives for the control of agronomic pests, such as those from botanical extracts that are generally more environmentally friendly and less damaging to the health of humans as well as other non-target organisms (Isman 2008).

A plant species of possible interest for use to control *M. sacchari* is *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), commonly known as "higuierilla." This plant is native to Africa, although some authors suggest that it may have originated from India or China (Worbs et al. 2011). Currently, this plant species is widely distributed worldwide and has many industrial, ornamental, and medicinal applications (Rana et al. 2012). To date, a total of 83 compounds have been isolated from various parts of *R. communis*, including alkaloids, terpenoids, flavonoids, benzoic acid derivatives, coumarins, tocopherols, and fatty acids. These compounds have demonstrated cytotoxic, insecticidal, anti-inflammatory, antioxidant activity, and anti-asthmatic properties, among others (Ribeiro et al. 2016). We report here our investigations with polarity extracts of leaves, fruits, and roots of *R. communis* for their insecticidal effectiveness against *M. sacchari*, and to identify active compounds responsible for their bioactivity.

Materials and Methods

PREPARATION AND ANALYSIS OF PLANT EXTRACTS

Leaves, fruits, and roots of *R. communis* were collected in the community of Yautepec, Morelos, Mexico (18.8248611°N, 99.0963333°W) in Jan 2018. A specimen of the plant was identified by M.C. Gabriel Flores Franco, specialist taxonomist, at the Herbarium of the Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, at the Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México, where it was deposited under catalog number 34874.

Prior to extraction, 100 g of leaves, 50 g of fruit, and 150 g of *R. communis* roots were dried outdoors in the shade for 15 d. Each plant part was macerated consecutively in 500 mL of 3 solvents of ascending polarity (*n*-hexane, acetone, and methanol) for 72 h. This process was conducted in triplicate. The solvent was removed by distillation under reduced pressure using a rotary evaporator (Buchi 205, Flawil, Switzerland). Extracts obtained were named depending on the solvent and part used: *n*-hexane extracts: leaf, fruit, and root; acetone extracts: leaf, fruit, and root; methanol extracts: leaf, fruit, and root.

The *n*-hexane leaf extract showed a higher mortality of aphids (96%), compared with the extracts of acetone (56%) and methanol (54%), and was further investigated to determine the bioactive components. Seven g were fractionated in a glass column previously packed with 60 g of silica gel 70–230 mesh (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). A gradient of *n*-hexane and ethyl acetate was used as the mobile phase, starting with 100% *n*-hexane and ending with 100% of

the solvent of higher polarity, collecting 10 mL samples at each gradient. This process was monitored by thin layer chromatography. Thin layer chromatography was used to obtain fractions based on chemical content into 7 categories (F1–F7): F1 (2.4 g, 95:5), F2 (0.69 g, 90:10), F3 (1.5 g, 85:15), F4 (0.64 g, 80:20), F5 (0.13 g, 50:50), F6 (0.16 g, 30:70), and F7 (0.19 g, 100% ethyl acetate), then subsequently evaluated in contact bioassays described later.

The most active fraction (F3, 1.5 g) isolated from *n*-hexane extract: leaf was subjected to a column chromatographic fractionation packed with silica gel (25 g, 70–230 mesh, Merck KGaA, Darmstadt, Germany). A gradient of *n*-hexane and ethyl acetate was used as the mobile phase, starting with 100% *n*-hexane and ending with 100% ethyl acetate. A total of 433 mg of a fraction obtained from F3 was separated in a reverse phase column packed with silica gel (1 g, RP-18, 40–63 µm, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) with water and acetonitrile as the mobile phase. Analysis of F3 using thin layer chromatography revealed, with Komarovskiy reagent, the presence of 2 major products: myristic acid (25.4 mg) and stearic acid (26.3 mg). These were subsequently identified by nuclear magnetic resonance spectra recorded on a Bruker Advance III HD-600 at 600 MHz for ¹H nuclear magnetic resonance and ¹³C nuclear magnetic resonance in CDCl₃. The mass-coupled gas chromatograph data was obtained using an Agilent 5975C equipped with a long-duration ion multiplier triple-axis detector in electronic impact mode.

BIOASSAYS

Laboratory colonized adult *M. sacchari* maintained in a greenhouse at Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, at the Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México were used in this study. Insects were maintained at the optimum temperature for insect reproduction of 25 ± 2 °C and fed hybrid sorghum variety M550 (Majestic Seeds Co., Hodges, South Carolina, USA).

Contact bioassays consisted of placing a 5 × 5 cm sorghum leaf into a 30 cm³ plastic Petri dish with filter paper on the bottom. One mL of distilled water was added to prevent the sorghum leaf from drying out. Ten *M. sacchari* were placed on a leaf using a camel hair brush. Ten µL of Tween 20 (0.2%) was added to each of the *n*-hexane and acetone extracts to allow them to be homogenized in 2 mL of water. A standard airbrush (Truper® Aero-35, Estado de México, México) was used to spray 0.15 mL of each mixture at concentrations of 2,500, 5,000, and 10,000 ppm onto the aphids. Two replicates were carried out with 5 repetitions per extract concentration in a completely randomized design. Percent aphid mortality was recorded at 24, 48, and 72 h after treatment. The synthetic chemical insecticide Confial® (active ingredient: 1% imidacloprid) and Tween 20 (0.2%) were used as controls.

STATISTICS

Mean percent mortality data were arcsine transformed prior to statistical analysis using an initial ANOVA test within a randomized study design. Post-hoc comparison of means was carried out using the Tukey test at ($P \leq 0.05$) using SAS 9.0 (SAS 2002). Untransformed means are presented.

Results

The yield of *R. communis* leaves, fruit, and root obtained from the extracts were as follows: *n*-hexane leaf (8%), fruit (2%), and root (0.5%); acetone leaf (2%), fruit (4%), root (0.9%); methanol leaf (16%), fruit (4%), and root (3.8%). In general, hexane extracts provided the highest mortality (96%) at 10,000 ppm at 72 h (Table 1). Aphid mor-

Table 1. Mean percent mortality (\pm SD) of apterous *Melanaphis sacchari* from contact bioassays of various hexane extracts of *Ricinus communis* plant parts.

Treatments	Concentration (ppm)	% Mean mortality		
		24 h	48 h	72 h
<i>n</i> -hexane extract – leaf	10,000	60 \pm 2.0 ^{bcd}	94 \pm 1.3 ^a	96 \pm 0.8 ^a
	5,000	50 \pm 1.0 ^{bcd}	70 \pm 1.2 ^{abc}	74 \pm 1.1 ^{abcd}
	2,500	20 \pm 0.4 ^{ed}	38 \pm 1.2 ^{cd}	42 \pm 1.4 ^{bcdde}
<i>n</i> -hexane extract – fruit	10,000	66 \pm 1.6 ^{bc}	78 \pm 1.7 ^{ab}	84 \pm 1.5 ^{abc}
	5,000	22 \pm 1.9 ^{de}	32 \pm 1.6 ^{de}	44 \pm 0.8 ^{de}
	2,500	26 \pm 1.6 ^{cd}	42 \pm 2.3 ^{cd}	42 \pm 2.3 ^e
<i>n</i> -hexane extract – root	10,000	76 \pm 1.5 ^b	86 \pm 1.6 ^a	88 \pm 1.3 ^{ab}
	5,000	32 \pm 2.3 ^{cd}	46 \pm 2.3 ^{bcd}	60 \pm 2.4 ^{bcdde}
	2,500	28 \pm 1.7 ^{bcd}	36 \pm 2.0 ^{bcd}	54 \pm 1.6 ^{bcdde}
Tween 20 (negative control)	2,000	0 ^e	0 ^e	6 \pm 0.5 ^f
Imidacloprid (positive control)	10,000	100 ^a	100 ^a	100 ^a

Means in each column with different letters were significantly different, Tukey multiple comparison test ($P \leq 0.05$).

tality between 5,000 and 10,000 ppm was not significantly different during this period of time. At 10,000 ppm, hexane leaf mortality was not significantly different from that of hexane root and fruit, and the positive control, imidacloprid, at 72 h. At 48 h, hexane leaf at 5,000 and 10,000 ppm also showed no significant difference compared with the positive control, exhibiting mortalities of 70 and 94%, respectively. In the same way, hexane fruit and root at 10,000 ppm were not significantly different from the positive control at 48 h.

All acetone extracts were less effective compared with hexane extracts (Table 2). At 10,000 ppm, acetone leaf and root had the highest aphid mortality (56%), and were significantly lower than the positive control. On the other hand, it was observed that the percentage of mortality at 48 h of the 3 treatments was below 50%, with the exception of acetone root at 10,000 ppm, which had a mortality of 52%. Statistically, no treatment was as effective as the positive control (imidacloprid). Methanolic extracts of *R. communis* were also less effective than the hexane and acetone extracts (Table 3).

Of all the fractions evaluated, F3 was statistically equal at all concentrations in effectiveness compared with imidacloprid (Fig. 1). The F3 category consisted of myristic and stearic acids. The ¹H nuclear magnetic resonance analysis of this fraction showed 4 multiple signals of δ 0.89 to 2.30 ppm, characteristic of fatty acids, and was confirmed with ¹³C nuclear magnetic resonance spectra by δ signals 13.82 to 43.81. In

addition, the presence of a carbonyl confirmed the presence of these acids. Gas chromatography-mass spectrometry analysis yielded the following data: tetradecanoic (myristic) acid (6.8 min, 228 uma [M] + for C₁₄H₂₈O₂) and octadecanoic (stearic) acid (8.4 min, m/z 284 uma [M + H] + C₁₈H₃₆O₂).

Discussion

The yellow aphid *M. sacchari* is an invasive species and the most important pest associated with sorghum cultivation. This insect has caused economic losses to farmers in the USA and Mexico, the top producers worldwide of this crop. The use of insecticides of synthetic origin represents the most effective option for their control because they are broad spectrum. The search for botanical alternatives for the control of *M. sacchari* is necessary because the use of bioinsecticides represents a more friendly option for the environment while minimizing the adverse impact to non-target organisms. Plants can defend themselves against the attack of aphids by producing secondary metabolites that can be used to control these insects. *Ricinus communis* is an interesting plant species with documented insecticidal activity (Rana et al. 2012). However, a literature search revealed little to no information regarding the use

Table 2. Mean percent mortality (\pm SD) of apterous *M. sacchari* from contact bioassays of various acetonic extracts of *Ricinus communis* plant parts.

Treatments	Concentration (ppm)	% Mortality \pm SD		
		24 h	48 h	72 h
acetone extract – leaf	10,000	32 \pm 1.0 ^{cb}	46 \pm 1.8 ^{cb}	56 \pm 1.4 ^b
	5,000	26 \pm 1.3 ^{cbd}	38 \pm 1.6 ^{cbd}	42 \pm 1.3 ^{cb}
	2,500	10 \pm 1.0 ^{fed}	14 \pm 0.5 ^{ed}	26 \pm 0.8 ^{cd}
acetone extract – fruit	10,000	28 \pm 1.0 ^{cbd}	34 \pm 1.6 ^{cbd}	46 \pm 1.6 ^{cb}
	5,000	8 \pm 0.8 ^{fed}	18 \pm 0.8 ^{ed}	26 \pm 1.1 ^{cd}
	2,500	4 \pm 0.5 ^{fe}	16 \pm 0.8 ^{ed}	22 \pm 0.4 ^{cd}
acetone extract – root	10,000	40 \pm 0.7 ^b	52 \pm 1.7 ^b	56 \pm 1.8 ^b
	5,000	16 \pm 1.1 ^{fed}	40 \pm 1 ^{cbd}	50 \pm 1.2 ^b
	2,500	16 \pm 0.5 ^{fed}	24 \pm 1.3 ^{cde}	36 \pm 1.6 ^{cb}
Tween 20 (negative control)	2,000	0 ^f	0 ^e	6 \pm 0.5 ^d
Imidacloprid (positive control)	10,000	100 ^a	100 ^a	100 ^a

Means in each column with different letters were significantly different, Tukey multiple comparison test ($P \leq 0.05$).

Table 3. Mean percent mortality (\pm SD) of apterous *Melanaphis sacchari* from contact bioassays of various methanolic extracts of *Ricinus communis* plant parts.

Treatments	Concentration (ppm)	% Mortality \pm SD		
		24 h	48 h	72 h
methanol extract – leaf	10,000	40 \pm 2.9 ^b	46 \pm 3.0 ^b	54 \pm 2.0 ^b
	5,000	28 \pm 0.8 ^{bc}	40 \pm 1.5 ^{bc}	50 \pm 1.0 ^{bc}
	2,500	20 \pm 2.3 ^{bc}	34 \pm 1.1 ^{bcd}	46 \pm 1.1 ^{bcd}
methanol extract – fruit	10,000	4 \pm 0.8 ^{bc}	6 \pm 0.8 ^{ef}	22 \pm 1.6 ^{def}
	5,000	0 \pm 0 ^c	4 \pm 0.5 ^f	20 \pm 1.0 ^{def}
	2,500	0 \pm 0 ^c	4 \pm 0.8 ^f	16 \pm 0.8 ^{ef}
methanol extract – root	10,000	20 \pm 0.7 ^{bc}	32 \pm 0.8 ^{bcde}	44 \pm 0.8 ^{bcd}
	5,000	12 \pm 1.3 ^{bc}	18 \pm 0.8 ^{cdef}	40 \pm 1 ^{bcd}
	2,500	10 \pm 0.7 ^{bc}	12 \pm 0.8 ^{def}	22 \pm 1.3 ^{def}
Tween 20 (negative control)	2,000	0 ^e	0 ^f	6 \pm 0.5 ^f
Imidacloprid (positive control)	10,000	100 ^a	100 ^a	100 ^a

Means in each column with different letters were significantly different, Tukey multiple comparison test ($P \leq 0.05$).

of extracts from this species for control of *M. sacchari*. Thus, to our knowledge, this is the first report on this subject. In our study, it was shown that hexane extracts from different parts of *R. communis* resulted in the highest mortality, compared with other extracts that were bioassayed with rates of 88 to 96% mortality occurring at 10,000 ppm, 78 to 94% at 5,000 ppm, and 60 to 76% at 2,500 ppm at 72 h. This is consistent with previous reports of other plant species for control of aphids. For example, Ateyyat and Abu-Darwish (2009) evaluated hexane bark extracts of *Rhamnus dispermus* (Ehrenb. ex Boiss.) (Rhamnaceae) to control the aphid *Pterochloroides persicae* (Cholodkovsky) (Hemiptera: Aphididae), reporting 40% mortality at 10,000 ppm in 72 h. Moreover, results of our investigation during the 48-h time period revealed insecticidal activity with ranges from 78 to 94% at 10,000 ppm, 32 to 70% at 5,000 ppm, and 38 to 42% at 2,500 ppm. This is similar to previous studies, such as that of Arya et al. (2014), who tested the oil ether extracts of *R. communis* seeds to control the aphid *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) (Hemiptera: Aphididae) with concentrations of 10,000 ppm and 5,000 ppm causing

100% and 75% mortality, respectively, in 48 h. Hewage et al. (1997) reported that the hexane extract of *Pleiospermium alatum* (Wight & Arn.) Swingle (Rutaceae) produced 90% mortality at 4,000 ppm at 48 h for the aphid *Aphis craccivora* (Koch) (Hemiptera: Aphididae). Another investigation, conducted by Rodríguez et al. (2012), demonstrated that oil ether extracts from *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) produced 75% mortality at 6,000 ppm at 48 h in *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae).

Our studies showed that the insecticidal action of hexane extracts 24 h after application of the treatments exerted an insecticidal effect, with mortality rates of 60 to 76% at 10,000 ppm and 22 to 50% at 5,000 ppm. These rates were similar to those published by Singh et al. (1988) to control the mustard aphid, *L. erysimi*, where hexane extracts from seeds of *Azadirachta indica* (A. Juss) (Meliaceae) produced 48% mortality at 5,000 ppm in 24 h. In addition, an investigation by Nia et al. (2015) showed that the *Artemisia herba-alba* (Asso) (Asteraceae) petroleum ether extract produced 40% mortality at 10,000 ppm in 24 h for the aphid *M. persicae*.

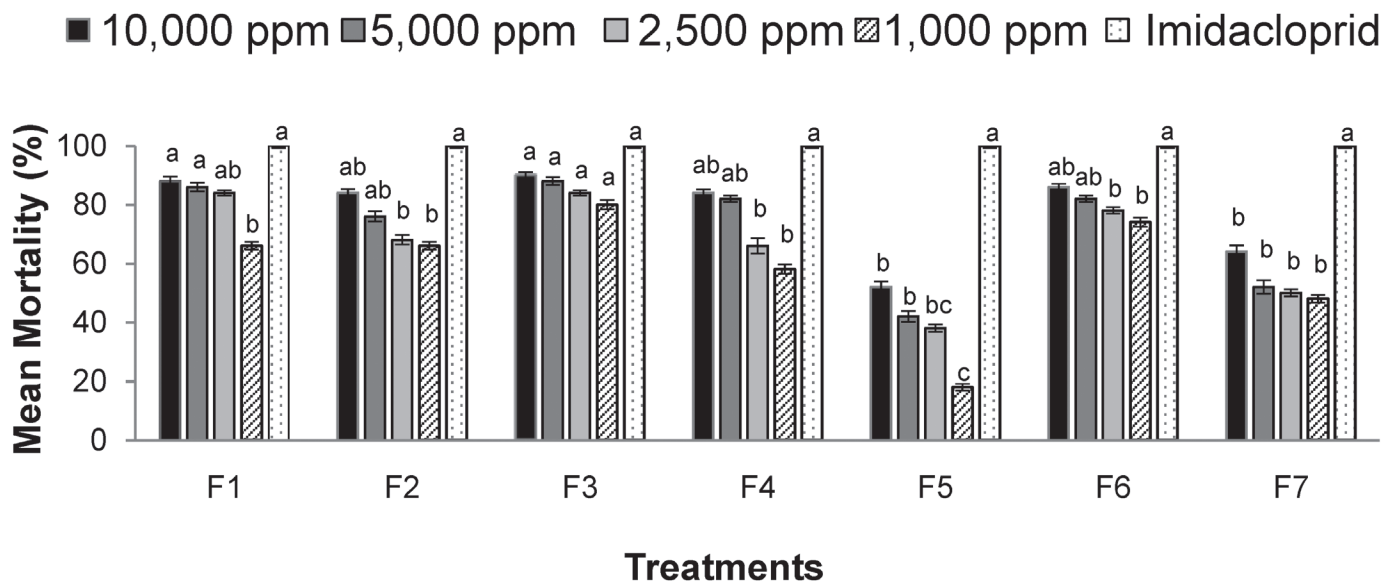


Fig. 1. Mean percent mortality (\pm SD) of apterous *Melanaphis sacchari* from contact bioassays of various hexane leaf fractions and concentrations of *Ricinus communis* at 72 h compared with imidacloprid as a positive control. Means with different letters for each fraction were significantly different, Tukey's multiple comparison test ($P \leq 0.05$).

Considering that the cuticle of aphids is mainly composed of alkyl esters, the methyl esters of fatty acids, triacylglycerides, and free fatty acids (Brey et al. 1985), it is possible that the effectiveness of hexane extracts is due to the chemical affinity of low-polarity compounds present in the extract with the aphid cuticle. In contrast, the acetone and methanol extracts produced low mortality rates due to low affinity toward the fatty body of *M. sacchari*.

Our bio-directed study led us to the identification of 2 major fatty acids (myristic acid and stearic acid) which were present in the F3 fraction of hexane leaf. This mixture possessed the highest mortality (90%) at 10,000 ppm in 72 h. These 2 fatty acids had been identified previously in *R. communis* (Bigi et al. 2004; Ramos-Lopez et al. 2012). We are not aware of reports on the insecticidal activity of these 2 fatty acids for control of aphids. In conclusion, hexane extracts were found to possess very effective insecticides for control of *M. sacchari*. *Ricinus communis* may represent a plausible avenue in the development of novel biorationale products for agronomic crop pest control for control of aphids.

Acknowledgments

The authors extend their appreciation to the Programa para el Desarrollo Profesional Docente de México (PRODEP) for the scholarship provided to the first author (PRODEP-511-6 / 17-6413 / UAGro-219). This article is part of the thesis for a Doctorate in Natural Sciences of the Universidad Autónoma del Estado de Morelos by the first author, C. Sotelo-Leyva. The last author, A. Zamilpa, expresses appreciation to the IMSS Foundation.

References Cited

- Armstrong JS, Rooney WL, Peterson GC, Villanueva RT, Brewer MJ, Sekula-Ortiz D. 2015. Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): host range and sorghum resistance including cross-resistance from greenbug sources. *Journal of Economic Entomology* 108: 576–582.
- Arya H, Sing BR, Singh K. 2014. Insecticidal activity of petroleum ether extract of castor seeds against mustard aphid *Lipaphis erysimi* Kaltenbach. *Advances in Bioresearch* 5: 165–168.
- Ateyyat MA, Abu-Darwish MS. 2009. Short communication. Insecticidal activity of different extracts of *Rhamnus dispermus* (Rhamnaceae) against peach trunk aphid, *Pterochloroides persicae* (Homoptera: Lachnidae). *Spanish Journal of Agricultural Research* 7: 160–164.
- Bigi MA, Torkomian LV, de Groote TCS, Hebling MJ, Bueno OC, Pagnocca FC, Fernandes JB, Vieira PC, da Silva MF. 2004. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Management Science* 60: 933–938.
- Bowling RD, Brewer MJ, Kerns DL, Gordy JN, Seiter NE, Elliott NM, Buntin GD, Way MO, Royer TA, Biles S, Maxson E. 2016. Sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae): a new pest on sorghum in North America. *Journal of Integrated Pest Management* 7: 1–13.
- Brey TP, Ohayon H, Lesourd M, Castex H, Roucachet J, Latge JP. 1985. Ultrastructure and chemical composition of the outer layers of the cuticle of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *Comparative Biochemistry and Physiology* 82: 401–411.
- Chuck-Hernández C, Pérez-Carrillo E, Heredia-Olea E, Serna-Saldívar S. 2011. El sorgo un cultivo multifacético para la producción de bioetanol en México: tecnologías, avances y áreas de oportunidad. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10: 529–549.
- FIRA – Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. 2016. Panorama agroalimentario del sorgo. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial. Morelia, Michoacán, Mexico.
- Harris-Shultz K, Ni X, Wadl PA, Wang X, Wang H, Huang F, Flanders K, Seiter N, Kerns D, Meagher R, Xue Q, Reising D, Buntin D, Cuevas HE, Brewer MJ, Yang X. 2017. Microsatellite markers reveal a predominant sugarcane aphid (Homoptera: Aphididae) clone is found on sorghum in seven states and one territory of the USA. *Crop Science* 57: 2064–2072.
- Hewage CM, Bandara KANP, Karunaratne V, Bandara BMR, Wijesundara DSA. 1997. Insecticidal activity of some medicinal plants of Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka* 25: 141–150.
- Isman MB. 2008. Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science* 64: 8–11.
- Medina RF, Armstrong SJ, Harrison K. 2017. Genetic population structure of sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari*, in sorghum, sugarcane, and Johnson grass in the continental USA. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 162: 358–365.
- Medrzycki P, Montanari R, Bortolotti L, Sabatini AG, Maini E, Porrini C. 2003. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. *Laboratory tests. Bulletin of Insectology* 56: 59–62.
- Müller N, Faria X, Facchini LA, Gastal A, Tomasi E. 2005. Pesticides and respiratory symptoms among farmers. *Revista de Saúde Pública* 39: 973–981.
- Nia B, Frah N, Azoui I. 2015. Insecticidal activity of three plants extracts against *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) and their phytochemical screening. *Acta Agriculturae Slovenica* 2: 261–267.
- Nibouche S, Costet L, Holt JR, Jacobson A, Pekaric A, Sadeyen J, Armstrong JS, Peterson GC, McLaren N, Medina RF. 2018. Invasion of sorghum in the Americas by a new sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari*) superclone. *PLoS ONE* 13: 1–15.
- Ramos-López MA, González-Chávez MM, Cárdenas-Ortega NC, Zavala-Sánchez MA, Pérez S. 2012. Activity of the main fatty acid components of the hexane leaf extract of *Ricinus communis* against *Spodoptera frugiperda*. *African Journal of Biotechnology* 11: 4274–4278.
- Rana M, Dhamija H, Prashar B, Sharma S. 2012. *Ricinus communis* L.-A. Review. *PharmaTech* 4: 1706–1711.
- Ribeiro PR, de Castro RD, Fernández LG. 2016. Constituents of the oilseed crop *Ricinus communis* and their pharmacological activities: a review. *Industrial Crops and Products* 91: 358–376.
- Rodríguez S, Regonat M, Carrizo P, Meilán J, Wagner M, Gurni A. 2012. Activity of nonpolar extracts from *Picrasma crenata* (Simaroubaceae) against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Revista Latinoamericana de Química* 39: 113–120.
- SAS. 2002. SAS System for Windows, vers. 9.0. SAS Institute, Cary, North Carolina, USA.
- Schenck S, Lehrer AT. 2000. Factors affecting the transmission and spread of sugarcane yellow leaf virus. *Plant Disease* 84: 1085–1088.
- Singh BU, Padmaja PG, Seetharama N. 2004. Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. *Crop Protection* 23: 739–755.
- Singh RP, Devakumar C, Dhingra S. 1988. Activity of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed kernel extracts against the mustard aphid, *Lipaphis erysimi*. *Phytoparasitica* 16: 225–230.
- Tejeda-Reyes MA, Díaz-Nájera JF, Rodríguez-Maciél JC, Vargas-Hernández M, Solís-Aguilar JF, Ayvar-Serna S, Flores-Yañez JA. 2017. Evaluación en campo de insecticidas sobre *Melanaphis sacchari* (Zehntner) en sorgo. *Southwestern Entomologist* 42: 545–550.
- Worbs S, Köhler K, Pauly D, Avondet MA, Schaer M, Dorner MB, Dorner B. 2011. *Ricinus communis* intoxications in human and veterinary medicine - a summary of real cases. *Toxins* 3: 1332–1372.

Efecto Afidicida de una Fracción de Flavonoides de *Dodonaea viscosa*¹ contra *Melanaphis sacchari*²

Authors: Sotelo-Leyva, César, Salinas-Sánchez, David Osvaldo, Peña-Chora, Guadalupe, López-Martínez, Víctor, González-Cortazar, Manasés, et. al.

Source: Southwestern Entomologist, 45(1) : 185-196

Published By: Society of Southwestern Entomologists

URL: <https://doi.org/10.3958/059.045.0120>

BioOne Complete (complete.BioOne.org) is a full-text database of 200 subscribed and open-access titles in the biological, ecological, and environmental sciences published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Complete website, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/terms-of-use.

Usage of BioOne Complete content is strictly limited to personal, educational, and non - commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

BioOne sees sustainable scholarly publishing as an inherently collaborative enterprise connecting authors, nonprofit publishers, academic institutions, research libraries, and research funders in the common goal of maximizing access to critical research.

Efecto Afidicida de una Fracción de Flavonoides de *Dodonaea viscosa*¹ contra *Melanaphis sacchari*²**Aphidicidal Effect of a Fraction of *Dodonaea viscosa*¹ Flavonoids against *Melanaphis sacchari*²**

César Sotelo-Leyva^{3,8}, David Osvaldo Salinas-Sánchez^{4*}, Guadalupe Peña-Chora⁵, Víctor López-Martínez⁶, Manasés González-Cortazar⁷, y Alejandro Zamilpa^{7*}

Resumen. El objetivo principal de este estudio fue identificar el compuesto mayoritario de una fracción (F3) de hojas de *Dodonaea viscosa* con actividad afidicida contra *Melanaphis sacchari*. El 3-O-rutinósido de quercetina (rutina) fue aislado de F3 por técnicas cromatográficas convencionales e identificado por resonancia magnética nuclear y análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La fracción F3 obtenida de un extracto metanólico de *D. viscosa* (DvEM), exhibió una actividad afidicida del 70% frente a *M. sacchari* en una concentración de 10,000 ppm a las 72 horas en dieta artificial. El insecticida imidacloprid produjo 100% de mortalidad de los áfidos, mientras que la mortalidad en el control fue 5%. Pruebas fitoquímicas clásicas comprobaron la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, cumarinas, antracenos, saponinas, triterpenos, y/o esteroides, en DvEM, para identificar los grupos de compuestos presentes y así llevar a cabo la estrategia de separación química. El perfil químico de DvEM realizado por HPLC indica que la fracción F3 está constituida por flavonoides, destacando la presencia de rutina. Este flavonol aislado de F3 fue caracterizado por RMN de ¹H y ¹³C. Los resultados demostraron que este tipo de flavonoides mayoritarios en DvEM pueden ser considerados como una alternativa para el desarrollo de nuevos insecticidas, constituyendo una opción ante los productos químicos tóxicos que actualmente se encuentran en el mercado.

Abstract. The main objective of this study was to identify the majority compound of a fraction (F3) of *Dodonaea viscosa* leaves that have aphidicidal activity against

¹Sapindaceae.

²Hemiptera: Aphididae.

³Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Av. Universidad 1001, Col. Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, 62209, México.

⁴Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (UAEM).

⁵Centro de Investigaciones Biológicas (UAEM).

⁶Facultad de Ciencias Agropecuarias (UAEM).

⁷Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social, Xochitepec, Morelos, 62790, México.

⁸Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro), Av. Lázaro Cárdenas S/N, Cd. Universitaria Sur, Chilpancingo, Guerrero, México.

*Autores de correspondencia: (D.O. Salinas-Sánchez): davidos@uaem.mx, (A. Zamilpa): azamilpa_2000@yahoo.com.mx

Melanaphis sacchari. Quercetin 3-O-rutinoside (rutin) was isolated from F3 by conventional chromatographic techniques and identified by nuclear magnetic resonance imaging and high-resolution liquid chromatography (HPLC) analysis. The F3 fraction obtained from a methanolic extract of *D. viscosa* (DvEM) exhibited an aphidicidal activity against *M. sacchari* of 70% at a concentration of 10,000 ppm during 72 hours on an artificial diet. The insecticide imidacloprid eliminated 100% of the aphids, while 5% of the check were dead. Classic phytochemical tests checked the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, coumarins, anthracens, saponins, triterpenes, and/or steroids in DvEM and identified the groups present and thus used a chemical separation strategy. The chemical profile of DvEM by HPLC indicated the F3 fraction consisted of flavonoids, highlighting the presence of rutin. This flavonol, isolated from F3, was characterized by ¹H and ¹³C NMR. The results showed this type of major flavonoids in DvEM can be considered an alternative for development of new insecticides, constituting a better option than toxic chemicals currently used.

Introducción

El pulgón de la caña de azúcar *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae), es originario de África, y actualmente, se encuentra distribuido a nivel mundial, teniendo preferencia por el sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) (Harris-Shultz et al. 2017). En México ingresó en 2013 provocando pérdidas de 30 al 100% en la producción del sorgo (Huerta-Rodríguez et al. 2018). *M. sacchari* se alimenta de la savia de la hoja y tallo del sorgo, siendo vector importante del virus sugarcane yellow leaf virus. Otro daño importante a la planta es la presencia de fumagina (*Capnodium* spp.) que interviene en la eficacia de la fotosíntesis (Perales-Rosas et al. 2017).

Para su control, se aplican insecticidas neonicotinoídeos, como imidacloprid, el cual mantiene la densidad de la población por debajo del umbral de daño económico de 50 individuos por hoja a partir de los 7 días después de la aplicación (Tejeda-Reyes et al. 2017). Los plaguicidas químicos han jugado un rol importante en el control de los insectos plaga, beneficiando el incremento de la producción agrícola, pero estos productos ingresan a la cadena alimenticia causando afectaciones en organismos vivos (Mekuaninte et al. 2011). Se ha reportado, que altas dosis y aplicaciones frecuentes de insecticidas químicos han causado envenenamientos en los humanos, principalmente en países en desarrollo, los insecticidas botánicos pueden ser efectivos para la protección de los cultivos contra el ataque de insectos plaga, además de ser menos costosos, biodegradables, y seguros para el ser humano y el medio ambiente (Silva et al. 2002, Isman 2008, Nava-Pérez et al. 2012). Una especie vegetal de interés es *Dodonaea viscosa* Jacq. (Sapindaceae) ampliamente distribuida en muchas partes del mundo incluyendo México (Ramírez-Dávila y Pérez 2008). Se utiliza para tratar múltiples enfermedades humanas, debido a la presencia de distintos compuestos químicos como los di y triterpenos, saponinas, flavonoides, y una mezcla compleja de otros compuestos fenólicos (Sandhya et al. 2009). También ha mostrado actividad repelente frente al áfido de los cereales *Rhopalosiphum padi* L. (Hemiptera: Aphididae) (Díaz et al. 2015). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto afidicida de los extractos de polaridad ascendente de *D. viscosa*, y mediante una separación cromatográfica, aislar e identificar al compuesto mayoritario presente en las hojas de esta especie vegetal.

Materiales y Métodos

Las hojas de *Dodonaea viscosa* se colectaron en la localidad de Barranca Honda, Yautepec, Morelos, México (18° 49'.29.5" N, 99° 05' 46.8" W), en octubre de 2017, y fue identificada por Gabriel Flores Franco (Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, Universidad Autónoma del Estado de Morelos) y un ejemplar preservado se depositó en el herbario HUMO del CIByC-UAEM, con número de folio 34892. El material seco y molido (500 g) fue extraído con *n*-hexano (DvEH), acetona (DvEA) y metanol (DvEM), 2.5 l de cada disolvente por separado por maceración durante 3 días/tres veces. El disolvente fue eliminado a presión reducida usando un evaporador giratorio (Buchi 205, Flawil, Switzerland). Los extractos secos fueron comparados por cromatografía en capa fina (CCF). Debido a su similitud química, los extractos fueron mezclados, dando los siguientes rendimientos totales: DvEH (2%), DvEA (12%), y DvEM (24%).

DvEM (7g) fue fraccionado en una columna de vidrio previamente empacada con 60 g de sílica gel 60 g, 70-230 mesh (Merck KGaA Darmstadt, Germany). Se utilizó un gradiente de diclorometano/metanol como fase móvil y aumento de polaridad del 5%. Este proceso fue monitoreado por cromatografía en capa fina (CCF), análisis que permitió llevar a cabo la agrupación de cuatro fracciones en función de su contenido químico (F1-F4). La fracción más activa (F3, 1.2 g) aislada de DvEM se sometió a un fraccionamiento cromatográfico en una columna de fase reversa con sílica gel (10 g, RP-18, 40-63 µm, Merck) con agua/acetonitrilo como fase móvil (muestras de 10 ml). Obteniendo 5 sub-fracciones (F3A1-5). La fracción F3A-4, contenía una sustancia amarilla-verdosa como compuesto mayoritario, la cual produce una coloración amarilla en cromatografía en capa fina al ser tratada con reactivo NP-PEG (2-aminoetildifenil borinato), indicando la presencia de un flavonoide, el cual fue elucidado por RMN como 3-O-rutinósido de quercetina (rutina): 32 mg, p.f. = 241-242°C. La RMN se registró en un equipo Varian Inova 400 MHz con sonda de detección inversa de dos canales de radiofrecuencia ¹H/¹⁵N-31PPFG (3mm) disuelto en CDCl₃. Los desplazamientos químicos son reportados en ppm, mientras que el tetrametilsilano se utilizó como referencia interna.

Además, también se utilizó HPLC para la identificación del compuesto aislado de F3-DvEM, con un equipo de módulos de separación Waters 2695 equipado con detector de matriz de fotodiodos Waters 996 y un software Empower Pro (Waters Corporation). La separación química se logró utilizando una columna Discovery® C-18 (250 x 4.6 mm, 5 µm, SUPELCO). La fase móvil consistió en agua al 0.5% de ácido trifluoroacético como solvente A y acetonitrilo como solvente B. El sistema fue un gradiente como se describe a continuación: 0-1 min, 0% B; 2-3 min, 5% B, 4-20 min, 30% B; 21-23 min, 50% B; 24-25 min, 80% B; 26-27 100% B; 28-30 min, 0% A. El flujo se mantuvo a 0.9 mL/min, y el volumen de inyección de la muestra fue de 10 µl. La absorbancia se midió a 280 nm, el pico del flavonoide fue identificado por comparación directa de los tiempos de retención y espectros UV con un estándar comercial de referencia (Sigma-Aldich). Para identificar los grupos de metabolitos secundarios de la DvEM se utilizaron métodos fitoquímicos clásicos para observar la presencia-ausencia de alcaloides, cumarinas volátiles, flavonoides, saponinas, taninos, triterpenos, y esteroides, así como derivados del antraceno (Harborne 1973, Stahl 1973, Lock 1994, Wagner y Bladt 1996).

Se colectaron pulgones en la comunidad de Tenango, Morelos, y se realizaron preparaciones permanentes para su identificación, con la ayuda de Adriana Gabriela Trejo Loyo del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-UAEM)

mediante las claves taxonómicas de Blackman y Eastop (1984). Para la actividad afidicida *in vitro* se utilizaron adultos ápteros de *M. sacchari*, de una colonia que previamente se estableció sobre plantas de sorgo variedad M550 en condiciones de invernadero, en el Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIByC-UAEM). La colonia se mantiene a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. La dieta artificial utilizada se basó en Toledo-Hernández et al. (2018), y el sistema de alimentación lo descrito en Torres-Quintero et al. (2013).

En cada sistema de alimentación se colocaron dos ml de la dieta artificial adicionando los tratamientos y homogenizados en un baño ultrasónico (Cole-Parmer®) en concentraciones de 2500, 5000, y 10000 ppm, con un control positivo (Confial® imidacloprid 1%) y uno negativo (dieta artificial). Dentro de cada sistema de alimentación se colocaron 10 adultos ápteros y se incubaron por 72 horas a una temperatura entre $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Cada unidad experimental consistió de un sistema de alimentación, se realizaron dos replicas con cinco repeticiones por tratamiento, en un diseño completamente al azar. La variable respuesta fue el porcentaje de mortalidad de los áfidos a las 24, 48, y 72 horas.

Los datos de mortalidad se transformaron en Arcoseno antes del análisis estadístico utilizando una prueba ANOVA, dentro de un diseño de estudio aleatorio. La comparación de medias se realizó mediante la prueba Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando SAS 9.0 (SAS 2002). Se presentan datos no transformados.

Resultados y Discusión

Nuestro trabajo representa el primer reporte, a nuestro entender, de la actividad afidicida por ingesta de extractos botánicos contra *M. sacchari*. El DvEH a concentraciones de 2,500, 5,000, y 10,000 ppm, logró una mortalidad del 10, 17, y 25% de los áfidos. El control positivo imidacloprid al 1% eliminó 95% de los insectos y el control negativo (dieta artificial) obtuvo un porcentaje de mortalidad del 5% en todo el tiempo experimental de 72 h. El DvEM de *D. viscosa* evaluado a 2,500, 5,000, y 10,000 ppm redujo 22, 47, y 62%, a *M. sacchari*. Este extracto fue más activo que los otros extractos de menor polaridad analizados en este trabajo. Los reportes en bioensayos de actividad afidicida por contacto con extractos de polaridad alta son escasos y éstos tienen un mejor efecto repelente (Pavela et al. 2009).

Las fracciones obtenidas de DvEM (F1-F4), se evaluaron a diferentes concentraciones por ingesta en *M. sacchari* (Fig. 1). De todas las fracciones evaluadas, la F3 a 10,000 ppm a las 72 h fue la que presentó un mayor porcentaje de mortalidad (70%), no habiendo diferencias estadísticas significativas con el control positivo, seguida de la fracción F4 con un 60%, y F1 y F2 con un 20 y 10%, a 10,000 ppm. Además, F3 y F4 lograron una buena mortalidad afidicida del 60 y 55% a 5,000 ppm, y de 52 y 50% a 2,500 ppm, a las 72 h, siendo diferentes estadísticamente al control positivo.

Los grupos de compuestos presentes en el DvEM son: alcaloides, cumarinas, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos, y/o esteroides y antracenos (Cuadro 2). Estudios fitoquímicos previos indican que *D. viscosa* contiene metabolitos secundarios del tipo flavonoides y terpenoide. Hsü y Chen (1971) aislaron de las hojas de *D. viscosa* un diterpeno llamado ácido hautriwaico. Sachdev y Kulshreshtha (1983) aislaron diversos flavonoides de una fracción de cloroformo de *D. viscosa* como santina, penduletina, 5-hidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxi-flavona, pinocembrina, 5,7,4'-trihidroxi-3,6-dimetoxiflavona. Sachdev y Kulshreshtha (1986), reportaron la presencia de viscosol un flavonoide prenilado aislado las hojas de *D.*

Cuadro 1. Porcentaje de Mortalidad (\pm DE) de Adultos Ápteros de *Melanaphis sacchari* Sometidos a Diferentes Extractos de Hojas de *Dodonaea viscosa* en Bioensayos de Ingesta
 Table 1. Percentage of Mortality (\pm SD) of Apterous Adults of *Melanaphis sacchari* Subjected to Different Extracts of Leaves of *Dodonaea viscosa* in Intake Bioassays

Tratamiento	2,500 ppm			5,000 ppm			10,000 ppm		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
DvEH	0 \pm 0b	5 \pm 0.5bc	10 \pm 0.8bcd	2.5 \pm 0.5b	10 \pm 0.8b	17 \pm 0.5bc	5 \pm 0.5b	17 \pm 0.9bc	25 \pm 0.5d
DvEA	0 \pm 0b	2.5 \pm 0.5bc	2.5 \pm 0.5cd	0 \pm 0b	7.5 \pm 0.9b	12.5 \pm 1.5cd	2.5 \pm 0.5b	12.5 \pm 0.5bcd	45 \pm 1.2c
DvEM	0 \pm 0b	2.5 \pm 0.5bc	22 \pm 1.2b	0 \pm 0b	10 \pm 1.4b	47 \pm 1.7b	7.5 \pm 0.5b	35 \pm 2.3b	62 \pm 0.9b
Imidacloprid	25 \pm 0.5a	45 \pm 1.7a	95 \pm 0.5a	37 \pm 0.5a	67 \pm 1.2a	100 \pm 0a	60 \pm 0.5a	80 \pm 1.1a	100 \pm 0a
Dieta artificial	0 \pm 0b	0 \pm 0c	5 \pm 0.5d	0 \pm 0b	0 \pm 0b	5 \pm 0.5d	0 \pm 0b	0 \pm 0d	5 \pm 0.5e
Significancia	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

Dentro de cada columna, compartir una letra no es significativamente diferente ($P \geq 0.05$).
 Within each column, means that share a letter are not significantly different ($P \geq 0.05$).

viscosa. Cao et al. (2009) aislaron de las raíces de *D. viscosa* dos saponinas triterpenoides dodoneasidos. También en las partes aéreas *D. viscosa* se reportó tres diterpenos *ent*-labdanos en un extracto etanólico de *D. viscosa* (Quintana de Oliveira et al. 2012). Es importante conocer los compuestos reportados previamente en *D. viscosa*, debido a que alguno de ellos podría presentar alguna actividad biológica, incluida la insecticida.

En el cromatograma de HPLC de la fracción más activa (F3), se identificó un pico de expresión correspondiente a la rutina (RT: 8.9 min). Este pico fue muy similar al estándar comercial de rutina (RT: 9.0 min) (Fig. 2). El espectro de RMN de ^1H y ^{13}C revelaron la presencia de un esqueleto de flavonol y la presencia de dos azúcares unidos en posición 1'' de ramnosa con 6'' de la glucosa el cual es conocido como rutinósido, por lo que los datos espectroscópicos y la comparación con los datos reportados en la literatura (De Oliveira et al. 2013, Akkol et al. 2015). Se determina que este compuesto corresponde a 3-O-rutinósido de quercetina (Fig. 3): ^1H -RMN (400 MHz, CD_3OD); δ 6.20 (1H, d, 2.3 Hz, H-6), 6.39 (1H, d, 2.3 Hz, H-8), 7.67 (1H, d, 2.3 Hz, H-2'), 6.87 (1H, d, 8.5 Hz, H-5'), 7.63 (1H, dd, 2.3, 8.5 Hz, H-6'), 5.1 (1H, d, 7.4 Hz, H-1''), 3.26-3.48 (4H, m, H-2''; H-3'', H-4'', H-5''), 3.39 (1H, m, H-6a''), 3.81 (1H, d, 10.9 Hz, H-6b''), 4.52 (1H, d, 1.5 Hz, H-1'''), 3.63 (1H, m, H-2'''), 3.54 (1H, dd, 9.5, 9.5 Hz, H-3'''), 3.27 (1H, m, H-4'''), 3.44 (1H, m, H-5'''), 1.12 (3H, d, 6.2, H-6'''); ^{13}C -RMN (100 MHz, CD_3OD); δ 158.6 (C-2), 135.7 (C-3), 179.4 (C-4), 163.0 (C-5), 100.1 (C-6), 166.4 (C-7), 95.0 (C-8), 159.4 (C-9), 105.6 (C-10), 123.2 (C-1'), 116.1 (C-2'), 145.9 (C-3'), 149.9 (C-4'), 117.8 (C-5'), 123.8 (C-6'), 104.8 (C-1''), 75.8 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.4 (C-4''), 77.2 (C-5''), 68.6 (C-6''), 102.5 (C-1'''), 72.3 (C-2'''), 72.2 (C-3'''), 74.0 (C-4'''), 69.8 (C-5'''), 18.1 (C-6''').

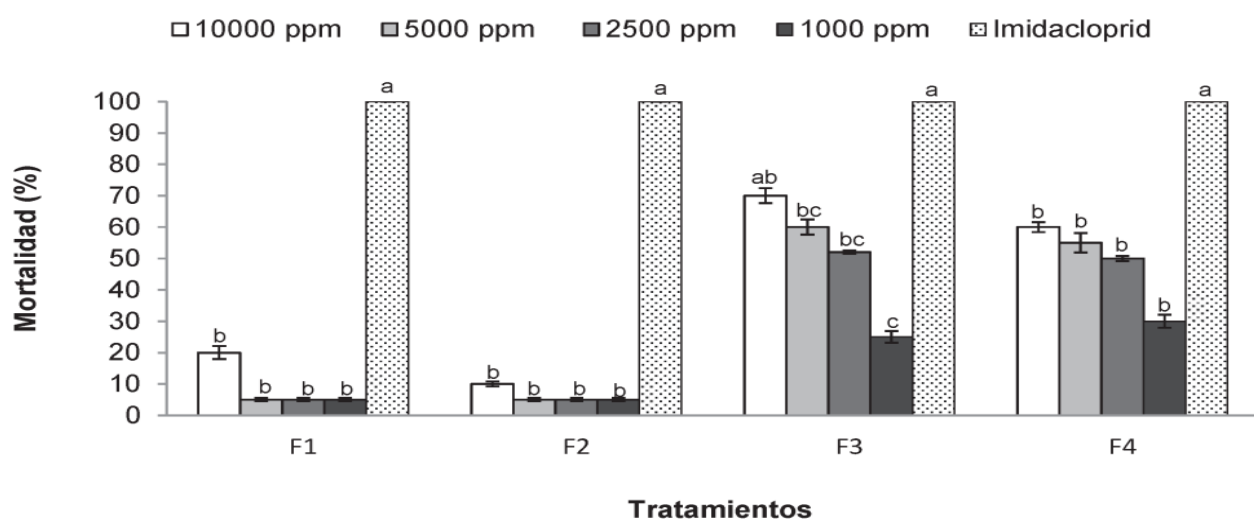


Fig. 1. Porcentaje de mortalidad ($\pm\text{DE}$) de *Melanaphis sacchari* en dieta artificial de varias fracciones y concentraciones de DvEM a las 72 h, en comparación con imidacloprid. Las medias con letras diferentes para cada fracción son significativamente diferentes.

Fig. 1. Percentage of mortality ($\pm\text{SD}$) of *Melanaphis sacchari* fed an artificial diet of various fractions and concentrations of DvEM at 72 h, compared with imidacloprid as a positive check. Means with different letters for each fraction are significantly different.

Cuadro 2. Grupos de Metabolitos Secundarios en DvEM
 Table 2. Groups of Secondary Metabolites of DvEM

Grupos de metabolitos	Ensayo	Resultados	Reacción observada
Alcaloides	Reacción de Wagner	++	Cambio de color a café
	Reacción de Mayer	+	Cambio de color a amarillo y precipitación
	Reacción de Dragendorff	+	Cambio de color a marrón y precipitación
Cumarinas	Test de fluorescencia en papel filtro	+	Fluorescencia amarilla
Flavonoides	Adición de Mg y HCl	+++	Cambio de color de amarillo a rojo después de 24 horas
Taninos	Cloruro férrico	++	Halo verde
	Solución de gelatina	-	Precipitado blanco
	Solución salina y gelatina	+	Precipitado blanco
	Solución de gelatina	-	-
Saponinas	Formación de espuma	++	Formación de espuma persistente
Triterpenos y esteroides	Reacción de Liberman-Burchard	++	Cambio de color a verde, azul o rojo
	Reacción de Salkowski	++	Precipitado blanco y cambio de color a naranja
Derivados del antraceno	NaOH 5%	++	Cambio a coloración rojiza
	Acetato de Mg a0.5%	-	

(-) no detectada, (+) prueba positiva débil, (++) prueba positiva, (+++) prueba positiva fuerte
 (-) not detected, (+) weak positive test, (++) positive test, (+++) strong positive test

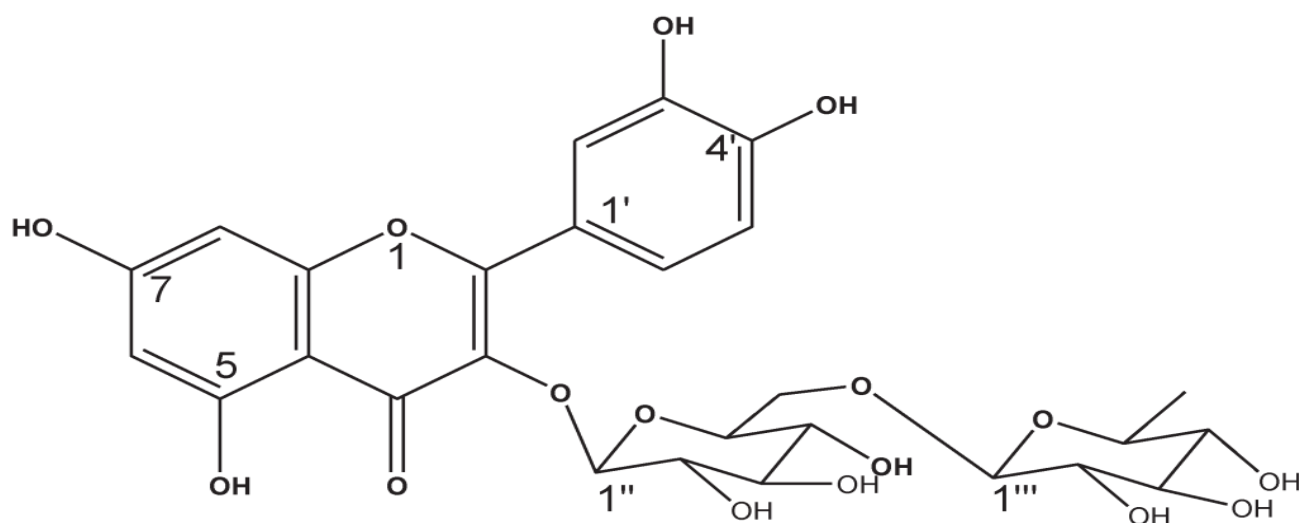


Fig. 3. Estructura química del 3-O-rutinósido de quercetina (rutina).
 Fig. 3. Chemical structure of quercetin 3-O-rutinoside (rutin).

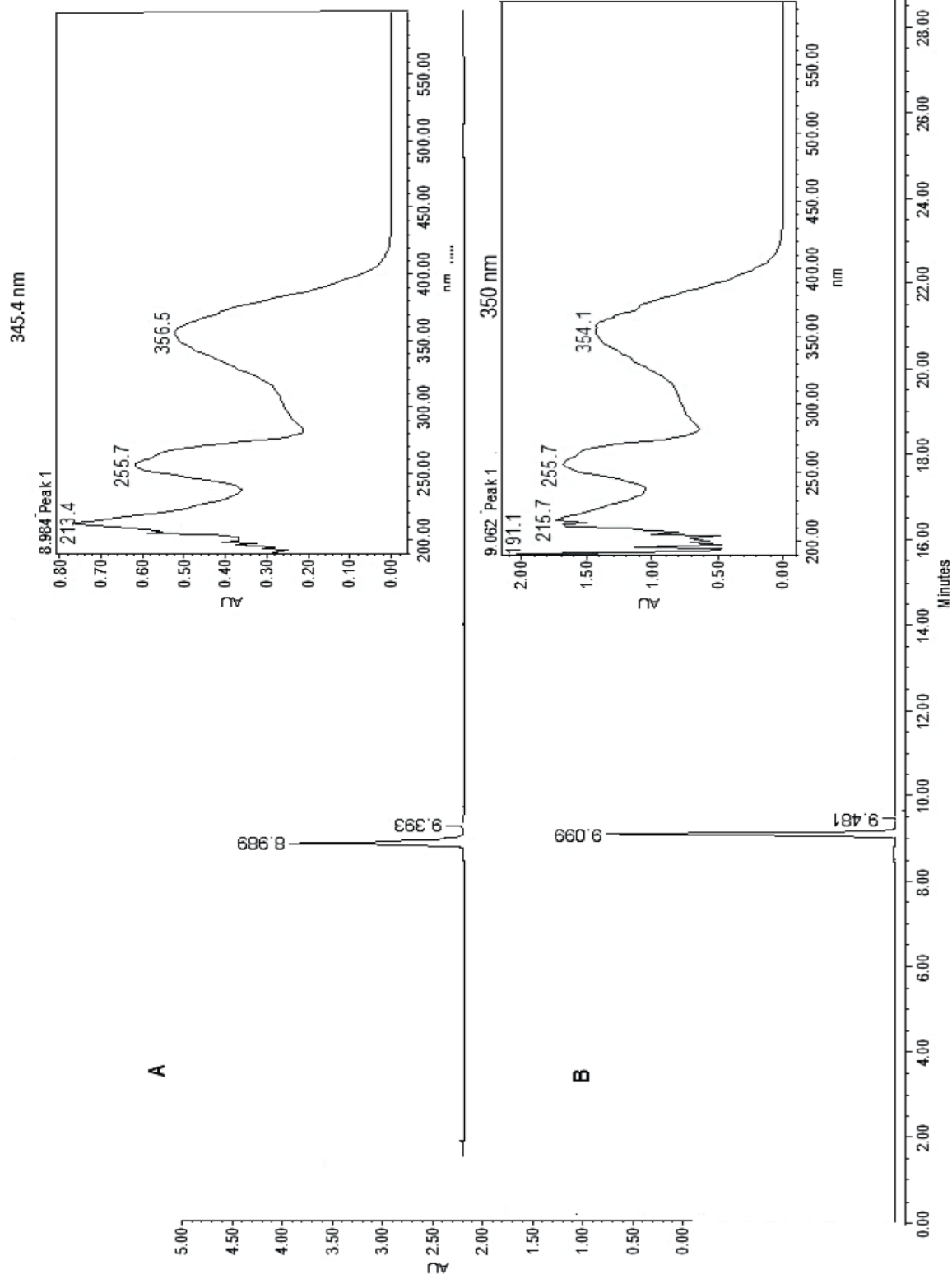


Fig. 2. Cromatograma de HPLC y espectros de UV, A) Compuesto mayoritario aislado de F3, B) Estándar de 3-O-rutinósido de quercetina (rutina).

Fig. 2. HPLC chromatogram and UV spectra of A) major compound isolated from F3, B) Quercetin 3-O-rutinoside (rutin) standard.

Hasta el momento, no existen reportes en la bibliografía sobre estudios de actividad afidicida, de extractos botánicos ni de compuestos bioactivo en dieta artificial, algunos autores reportan a la rutina con un efecto tóxico contra otros insectos como Silva et al. (2016), evaluaron en concentraciones de 1.0, 2.0, y 3.0 mg/g⁻¹ en dieta artificial frente a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), mostrando un prolongamiento en el tiempo de desarrollo larvario, reducción del peso y viabilidad de larvas y pupas. El compuesto mayoritario presente en la fracción más activa F3 de DvEM fue identificado como el flavonoide rutina. Esto permite proponer que el efecto afidicida de DvEM se debe principalmente a la presencia de rutina. Esta investigación puede permitir el desarrollo de productos de *D. viscosa* estandarizados en el contenido de rutina para el control de *M. sacchari*.

Agradecimientos

Este artículo fue tomado en parte de la tesis del primer autor, quien es estudiante del Doctorado en Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, gracias a PRODEP-MÉXICO 511-6/17-6413/UAGro-219, por el financiamiento de este proyecto.

Referencias Citadas

- Akkol, E. K., I. Süntar, H. Keles, E. Sezik, and G. Gürler. 2015. Bioassay-guided isolation and characterization of wound healer compounds from *Morus nigra* L. (Moraceae). *Records of Natural Products* 9: 484-495.
- Blackman, R. L., and V. F. Eastop. 2015. *Aphids on the World's Plants. An Online Identification and Information Guide.* <http://www.aphidsonworldsplants.info>.
- Cao, S., P. Brodie, M. R. Callmander, J. Randrianaivo, E. Rakotobe, V. E. Rasamison, K. TenDyke, Y. Shen, E. M. Suh, and D. G. Kingston. 2009. Antiproliferative triterpenoid saponins of *Dodonaea viscosa* from the Madagascar dry forest. *J. Nat. Prod.* 72: 1705-1707.
- De Oliveira, D. M., E. P. Siqueira, Y. R. F. Nunes, B. B. Cota. 2013. Flavonoids from leaves of *Mauritia flexuosa*. *Rev. Bras. Farmacogn.* 23: 614-620.
- Díaz, M., C. E. Díaz, R. G. Álvarez, A. González, L. Castillo, A. González-Coloma, G. Seoane, and C. Rossini. 2015. Differential anti-insect activity of natural products isolated from *Dodonaea viscosa* Jacq. (Sapindaceae). *J. Plant Prot. Res.* 55: 173-178.
- Gibbons, D. C., C. Morrissey, and P. Mineau. 2014. A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22: 103-118.
- Harborne, J. B. 1973. *Phytochemical Methods, a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* Chapman, London.
- Harris-Shultz, K., X. Ni, P. A. Wadl, X. Wang, H. Wang, and F. Huang. 2017. Microsatellite markers reveal a predominant sugarcane aphid (Homoptera: Aphididae) clone is found on sorghum in seven states and one territory of the USA. *Crop Sci.* 57: 2064-2072.
- Hsü, H. Y., and Y. P. Chen. 1971. Structure of hautriwaic acid. *Phytochemistry* 10: 2813-2814.
- Huerta-Rodríguez, J. O., A. Huerta-de la peña, A. Aragón-García, C. Carmona-Fernández. 2018. Consumption and developmental capacity of *Chrysoperla*

- carnea* (Stephens) on the sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari* Zehntner) in Puebla, Mexico. *Southwest. Entomol.* 43: 417-432.
- Isman, M. B. 2008. Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Manag. Sci.* 64: 8-11.
- Lock, O. 1994. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Fondo editorial de la Pontifica Universidad Católica del Perú PUEP Lima, Lima (Perú). <https://www.fondoeditorial.pucp.edu.pe/quimica/429-investigacion-fitoquimica.html#.XbpWpTBKjDc>.
- Mekuaninte, B., A. Yemataw, T. Alemseged, and R. Nagappan. 2011. Efficacy of *Melia azedarach* and *Mentha piperita* plant extracts against cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae). *World Applied Sciences Journal* 11: 2150-2154.
- Nava-Pérez, E., C. García-Gutiérrez, J. R. Camacho-Báez, y E. L. Vázquez-Montoya. 2012. Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai.* 8: 17-29.
- Pavela, R., N. Vrchotová, and B. Sera. 2009. Repellency and toxicity of three *impatiens* species (Balsaminaceae) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *J. Biopest.* 2: 48-51.
- Perales-Rosas, D., D. Guillén-Sánchez, V. López-Martínez, M. Andrade-Rodríguez, I. Alía-Tejacal, R. Hernández-Pérez, y P. Juárez-López. 2017. Comportamiento de híbridos de *Sorghum bicolor* (L.) Moench, frente a *Melanaphis sacchari/sorghii* en el Estado de Morelos, México. *Southwest. Entomol.* 42: 815-820.
- Quintana de Oliveira, S., M. T. Rojo de Almeida, F. Maraslis, S. I. Thaís, S. T. C. Marques, J. A. Palermo, G. M. Cabrera, B. C. M. Soriano, S. C. M. Oliveira, and E. P. Schenkel. 2012. Isolation of three new *ent*-labdane diterpenes from *Dodonaea viscosa* Jacquin (Sapindaceae): preliminary evaluation of antiherpes activity. *Phytochem. Lett.* 5: 500-505.
- Ramírez-Dávila, J. F., y J. Pérez. 2008. Utilización del Chapulixtle (*Dodonaea viscosa*) en los procesos agrícolas de la comunidad del progreso Hidalgo, Estado de México. *Revista de Geografía Agrícola* 40: 19-25.
- Sachdev, K., and D. K. Kulshreshtha. 1983. Flavonoids from *Dodonaea viscosa*. *Phytochem.* 22: 1253-1256.
- Sachdev, K., and D. K. Kulshreshtha. 1986. Viscosol, a C3' prenylated flavonoid from *Dodonaea viscosa*. *Phytochem.* 25: 1967-1969.
- Sandhya, M., R. Pippalla, and K. Mohan. 2009. *Dodonaea viscosa* Linn. An overview. *Journal of Pharmaceutical Research and Health Care* 1: 97-112.
- SAS Institute. 2002. SAS System for Windows release 9.0. SAS Institute, Cary, NC.
- Silva, A. G., T. A. Lagunes, M. J. C. Rodríguez, y L. D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66: 4-12.
- Silva, T. R. F. B., A. C. D. S. Almeida, T. D. L. Moura, A. R. D. Silva, S. D. S. Freitas, and F. G. Jesús. 2016. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Sci. Agron.* 38: 165-170.
- Stahl, E. 1973. *Drug Analysis by Chromatography and Microscopy*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI.
- Tejeda-Reyes, M. A., J. F. Díaz-Nájera, J. C. Rodríguez-Maciel, M. Vargas-Hernández, J. F. Solís-Aguilar, S. Ayvar-Serna, y J.A. Flores-Yañez. 2017.

- Evaluación en campo de insecticidas sobre *Melanaphis sacchari* (Zehntner) en sorgo. *Southwest. Entomol.* 42: 545-550.
- Toledo-Hernández, E., V. M. Hernández-Velázquez, and G. Peña-Chora. 2018. An artificial diet for the sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari* Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) with potential uses for *in vitro* toxicological studies. *Fla. Entomol.* 101: 395-398.
- Torres-Quintero, M., C. I. Arenas-Sosa, G. Peña-Chora, and V. M. Hernández-Velázquez. 2013. Feeding chamber for *Myzus persicae* culture (Hemiptera: Aphididae). *Fla. Entomol.* 96: 1600-1602.
- Wagner, H., and S. Blatt. 1996. *Plant Drug Analysis*. Springer, Heilderberg, Germany.

Aphidicidal Activity of an Aqueous Fraction of *Serjania schiedeana* Against *Melanaphis sacchari*

Authors: César Sotelo-Leyva, David Osvaldo Salinas-Sánchez, Juan Manuel Rivas-González, Oscar Dorado, Dulce María Arias, et. al.

Source: Southwestern Entomologist, 44(3) : 585-594

Published By: Society of Southwestern Entomologists

URL: <https://doi.org/10.3958/059.044.0304>

BioOne Complete (complete.BioOne.org) is a full-text database of 200 subscribed and open-access titles in the biological, ecological, and environmental sciences published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Complete website, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/terms-of-use.

Usage of BioOne Complete content is strictly limited to personal, educational, and non-commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

Aphidicidal Activity of an Aqueous Fraction of *Serjania schiedeana*¹ against *Melanaphis sacchari*²

César Sotelo-Leyva³, David Osvaldo Salinas-Sánchez^{4,5*}, Juan Manuel Rivas-González⁵, Oscar Dorado⁶, Dulce María Arias⁶, Manasés González-Cortazar⁷, and Alejandro Zamilpa^{7*}

Abstract. Aphidicidal activity of an aqueous fraction of stems of *Serjania schiedeana* Schltdl. (Sapindaceae) was evaluated in laboratory bioassays by artificial diet against adult female apterous sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae). The aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* at concentrations of 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 ppm killed 34, 36, 56, and 82% of the aphids, respectively, during the 72-hour experimental period. The positive check imidacloprid (Confial®) at 1% killed 100% of the aphids and the negative check (artificial diet) killed only 4%. The mean lethal concentration (LC₅₀) of the aqueous fraction treatments was 3,013 ppm. A phytochemical profile of the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* was positive for alkaloids, flavonoids, and tannins. Tannins were also major compounds by HPLC analysis, revealing the presence of proanthocyanidins. Results suggested *S. schiedeana* might have important potential for development of new bioinsecticides, providing a better option than synthetic insecticides.

Resumen. Se evaluó la actividad afidicida de una fracción acuosa de tallos de *Serjania schiedeana* Schltdl. (Sapindaceae), en bioensayos de laboratorio mediante dieta artificial frente a hembras adultas ápteras de *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae). La fracción acuosa de tallos de *S. schiedeana* causó una mortalidad de los áfidos de 34, 36, 56, y 82% a concentraciones de 1000, 2500, 5000, y 10000 ppm, respectivamente, en todo el tiempo experimental de 72 horas. Mientras que el control positivo Imidacloprid (Confial®) al 1% eliminó el 100% de los áfidos y el control negativo (dieta artificial) sólo presentó una mortalidad del 4%. La concentración letal media (CL₅₀) de los tratamientos de la fracción acuosa fue de 3,013 ppm. Un perfil fitoquímico de la fracción acuosa de tallos de *S. schiedeana* resultó positivo para alcaloides, flavonoides, y taninos, estos últimos también fueron encontrados como compuestos mayoritarios mediante un análisis de HPLC,

¹Sapindaceae

²Hemiptera: Aphididae

³Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.

⁴Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC) Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.

⁵Escuela de Estudios Superiores del Jicarero (EESJ), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.

⁶Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla (CEAMISH), Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.

⁷Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS, Xochitepec, Morelos, México.

*Corresponding authors: davidos@uaem.mx, azamilpa_2000@yahoo.com.mx

revelando la presencia de proantocianidinas. Estos resultados sugieren que *S. schiedeana* puede ser una especie vegetal con un potencial importante para el desarrollo de nuevos bioinsecticidas, constituyendo una mejor opción ante el uso de productos químicos sintéticos.

Introduction

The sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Hemiptera: Aphididae), is widely distributed mostly in tropical and subtropical regions where sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Poaceae), and sugarcane, *Saccharum officinarum* L. (Poaceae), hosts are cultivated (Blackman and Eastop 2000, Singh et al. 2004). In Mexico, the sugarcane aphid is an invasive species, observed for the first time in late 2013 at Tamaulipas at the same time it was severely infesting and causing significant loss of production of sorghum crops in the United States (Maya and Rodríguez del Bosque 2014). Losses ranged from 30 to 100% at Tamaulipas, with significant loss in seed production at Jalisco, Nayarit, and Sinaloa (Rodríguez del Bosque and Terán 2015). At Guanajuato 2 years later in 2015, early planted sorghum suffered as much as 20% damage, and most late plantings were almost completely destroyed (Delgado-Ramírez et al. 2016). That year, the sugarcane aphid was found for the first time in the State of Morelos, causing severe damage with loss of 40 to 100% (Hernández-Arenas et al. 2016).

Neonicotinoid insecticides usually are used for control (Tejeda-Reyes et al. 2017). However, indiscriminant use of insecticides negatively affects biodiversity, such as bee colony collapse (Medrzycki et al. 2003). Such harmful effects have led to increasing controversy over use of insecticide (Ramos-López et al. 2014). Considering these issues, it is important to search for new insecticidal compounds and/or natural substances that are environmentally friendly. Plants with bioinsecticide potential are an important component in integrated pest management (Ansante et al. 2017, Martínez et al. 2017).

Serjania Mill., the most speciose American genus of the Sapindaceae family, has about 230 species (Ferrucci and Medina-Lemos 2013). It is distinguished from related genera by schizocarpic fruit with three mericarps, with the seminiferous portion distal and the wing proximal. Fifty-three species are reported in Mexico, six of those at Morelos (Villaseñor 2016). *Serjania schiedeana* Schltdl. (Sapindaceae) (Fig. 1) is characterized by obtusely triquetrous stems, densely tomentose with yellow to white trichomes, and five foliolate leaves, similar to *Serjania triquetra* Radlk. (Sapindaceae), also at Morelos, that has nine leaflets. The flowers are 5-6 mm long and arranged in axillary or terminal thyrses, with five sepals and four petals. Fruit is 2-3 cm long and densely pubescent. The species is distributed at Morelos mostly in tropical dry forest (Miranda and Hernández 1963) at altitudes of 940 to 1,500 m.

There are no reports of *S. schiedeana* activity against insects. The objective of this study was to determine insecticidal activity by *in vitro* ingestion of an aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* against adult female apterous *M. sacchari* and characterize groups of phytochemical constituents in the aqueous fraction.



Fig. 1. *Serjania schiedeana* herbarium sheet: A = main branch with leaves and inflorescences, B = upper and lower leaves, C = flower, D = tendril, and E = stem.

Materials and Methods

Stems of *S. schiedeana* (3.7 kg) were collected in September 2017 at the Sierra de Huautla Morelos Biosphere Reserve in Mexico. The species was identified by specialists M. C. Juan Carlos Juárez Delgado and M. C. Jorge Calónico, and one voucher specimen was deposited as accession number 23690 at the Herbarium of the Autonomous University of the State of Morelos. The plant material was dried in the dark at room temperature for 1 month, then the stems were ground in a Model 95 Pulvex mill (Molinos Pulvex SA de CV, Mexico).

The dry, pulverized plant material was put with 2.5 liters of methanol per 500 g of plant material in an Erlenmeyer flask. Extraction was done in triplicate for 3 days, filtered, and the solvent was distilled under reduced pressure with a rotary evaporator (Laborota 4000, Heidolph Instruments, Schwabach, Germany). The extract was fractionated by a partition process using water and ethyl acetate (1:1). The aqueous fraction yielded 35%. It was vacuum dried and stored in a 250-ml Erlenmeyer flask and frozen at -20°C until used in bioassays.

For *in vitro* bioassays, adult female apterous *M. sacchari* from a colony previously established on potted sorghum plants were used. The breeding stock was maintained at $25 \pm 2^\circ\text{C}$, the optimum temperature for reproduction of the species, in the greenhouse at the Center for Biodiversity Research and Conservation of the Autonomous University of the State of Morelos.

The artificial diet for the bioassay of intake was the same as reported by Toledo-Hernández et al. (2018). The feeding system for the sugarcane aphid was reported by Torres-Quintero et al. (2013). In each feeding system, 2 ml of artificial diet at concentrations of 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 ppm of aqueous fraction of stems of *S. schiedeana*, positive check (imidacloprid), or negative check (artificial diet) were used. All treatments were previously homogenized in an ultrasonic bath (Cole-Parmer®). Ten aphids in each feeding system were incubated for 72 hours at $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Each experimental unit was a feeding system with 10 aphids, two replications, and five replications per treatment, in a completely randomized design. The response variable was the percentage of aphids dead at 24, 48, and 72 hours after treatment.

To identify secondary metabolite groups of the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana*, traditional phytochemical methods were used to observe alkaloids, volatile coumarins, flavonoids, saponins, tannins, triterpenes, and steroids, as well as anthracene derivatives (Harborne 1973, Stahl 1973, Lock 1994, Wagner and Blatt 1996). A Waters 2695 separation module equipped with a Waters 996 photodiode array detector and Empower Pro software (Waters Corporation) were used for chromatographic analysis. Chemicals were separated by a Discovery® C-18 column (250 x 4.6 mm, 5 μm , Supelco). The mobile phase consisted of 0.5% trifluoroacetic acid water as solvent A and acetonitrile as solvent B. The system used a gradient of 0-1 minute, 0% B; 2-3 minutes, 5% B, 4-20 minutes, 30% B; 21-23 minutes, 50% B; 24-25 minutes, 80% B; 26-27 minutes, 100% B; and 28-30 minutes, 0%. A Flow was maintained at 0.9 ml per minute, and the injection volume of the sample was 10 μl . Absorbance was measured at 280 nm; a mixture of proanthocyanidins was identified by direct comparison of retention times and UV spectra with a reference standard.

Mortality data were analyzed using one-way ANOVA and the Tukey test ($P \leq 0.05$) to evaluate pairwise differences between treatments. The mean lethal concentration (LC_{50}) was calculated using Probit regression. The SAS (2002) statistical program was used for all analyses.

Results

The aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* at 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 ppm killed 4, 6, 12, and 20% of the aphids, respectively, by 24 hours after treatment (Table 1). The positive check imidacloprid (1% Confial®) killed 42% of *M. sacchari*, and the negative check (artificial diet) killed 2%. The LC_{50} was 3,013 ppm.

The aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* at 48 hours post treatment killed more aphids than at 24 hours. Twenty, 30, 48, and 54% of *M. sacchari* died at 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 ppm, respectively. The positive check imidacloprid (1% Confial®) killed 76%, and the negative check (artificial diet) killed 4%.

Likewise, the effect of the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* increased during a longer exposure time of 72 hours, with concentrations of 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 ppm killing 34, 36, 56, and 82%, respectively, of the aphids. The positive check imidacloprid (1% Confial®) killed 100%, and the negative check (artificial diet) killed 4%.

Classical phytochemical methods with the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* indicated a weak presence of flavonoids and strong presence of alkaloids and tannins (Table 2). The secondary metabolites might be related to insecticidal effect against *M. sacchari*.

Fig. 2 shows the HPLC chromatogram of direct comparison between standard proanthocyanidin compound (Fig. 2A) epicatechin-(4 β →8)-epicatechin - (4 β → 8,

Table 1. Effect of the Aqueous Fraction of Stems of *Serjania schiedeana* at Concentrations of 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 ppm and Positive (Imidacloprid) and Negative (Artificial Diet) Checks on *Melanaphis sacchari* (% Mortality \pm SD) in Intake Bioassays

Treatment (ppm)	Percentage of mortality (\pm SD)		
	Hours after application		
	24	48	72
1,000	4 \pm 0.5c	20 \pm 1de	34 \pm 0.8c
2,500	6 \pm 0.5bc	30 \pm 1cd	36 \pm 0.5c
5,000	12 \pm 0.8bc	48 \pm 0.8bc	56 \pm 1.3b
10,000	20 \pm 1.2b	54 \pm 0.8b	82 \pm 1.6a
Positive check	42 \pm 0.8a	76 \pm 1.1a	100 \pm 0a
Negative check	2 \pm 0.4c	4 \pm 0.5e	4 \pm 0.5d

Means followed by the same letter in a column are not significantly different ($p \leq 0.05$), (LC₅₀ = 3,013 ppm).

Table 2. Groups of Secondary Metabolites in the Aqueous Fraction of Stems of *Serjania schiedeana* Evaluated against *Melanaphis sacchari*

Group of metabolites	Test	Result	Reaction observed
Alkaloids	Wagner reagent	+++	Color change to brown
	Mayer reagent	+	Color change to yellow and precipitation
	Dragendorff reagent	+	Color change to brown and precipitation
Coumarins	Fluorescence test on filter paper	-	Yellow fluorescence
Flavonoids	Addition of Mg and HCl	+	Color change from yellow to red after 24 hours
Tannins	Ferric chloride	+++	Green halo
	Gelatine solution	+	White precipitate
	Gelatin and saline	+	White precipitate
	Saline solution	-	-
Saponins	Foaming	-	Persistent foam formation
Triterpenes and / or steroids	Lieberman-Burchard reagent	-	Color change to green, blue, or red
	Salkowski reagent	-	Precipitate with color change to orange
Anthracene derivatives	5% NaOH	-	Color change to reddish
	0.5% Mg Acetate	-	

(-) not detected, (+) weak positive, (++) positive, (+++) strong positive

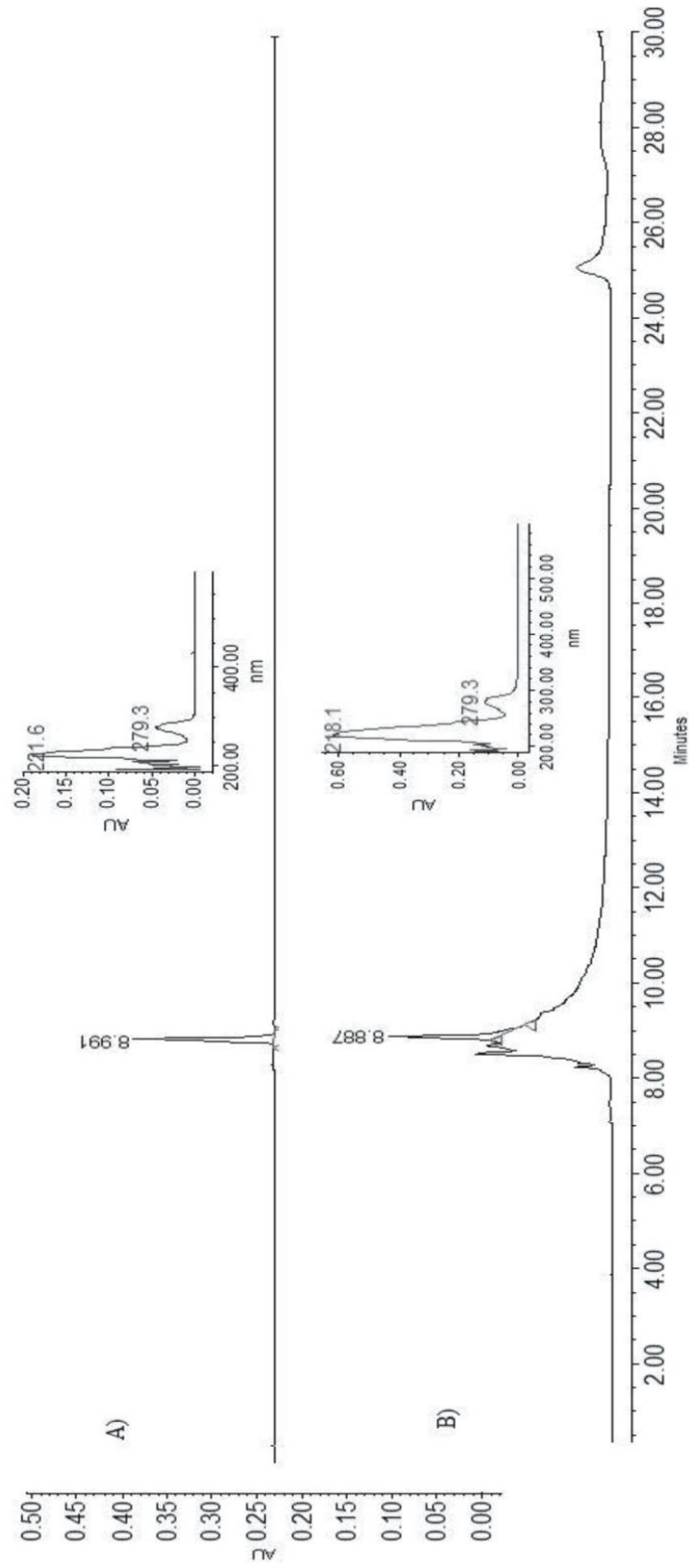


Fig. 2. HPLC chromatogram and UV spectra: A) standard of a proanthocyanidin; epicatechin – (4 β → 8) –epicatechin – (4 β → 8, 2 β → O → 7) and B) complete extract of aqueous fraction of stems of *Serjania schiedeana*.

$2\beta \rightarrow O \rightarrow 7$) (Fig. 3), previously isolated from the plant species (Salinas-Sánchez et al. 2017), with the aqueous fraction of stems of *Serjania schiedeana* (Fig. 2B). The comparison showed a major compound with a retention time of 8.8 minutes and absorbance in the ultraviolet range of 218 to 279 nm. The compounds were observed in the aqueous fraction.

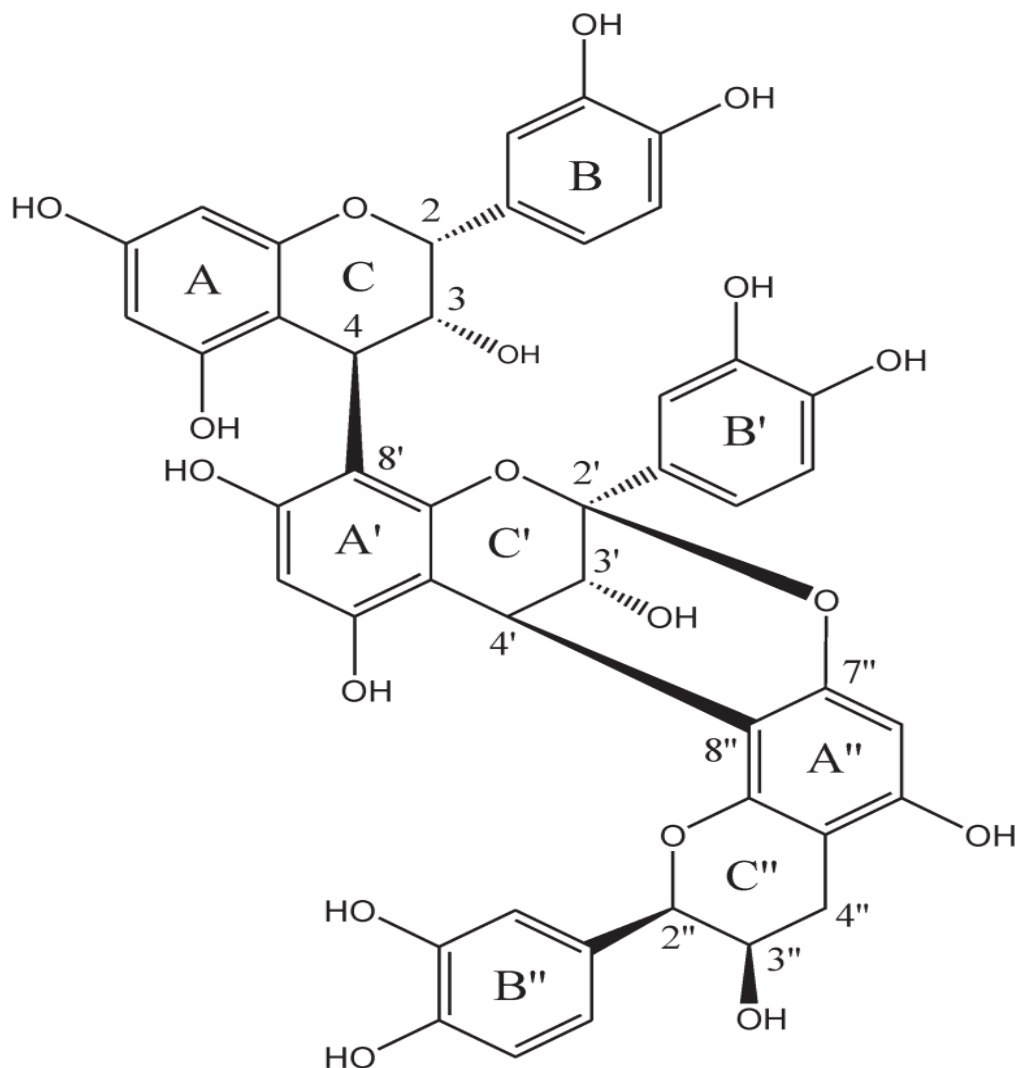


Fig. 3. Chemical structure of epicatechin – (4 β → 8) –epicatechin – (4 β → 8, 2 β → O → 7) identified from the aqueous fraction of stems of *Serjania schiedeana*.

Discussion

The aqueous fraction of *S. schiedeana* stems had a strong insecticidal effect statistically comparable to the positive check. Most study of insecticidal activity of botanical extracts against aphids uses contact bioassays. Asiry (2015) used different parts of *Citrullus colocynthis* L. Schrad (Cucurbitaceae) and found that 100,000 ppm of aqueous extracts of stems killed 75% of the aphid *Rhopalosiphum padi* L. (Hemiptera: Aphididae). Treatment with an aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* at a concentration of 10,000 ppm killed 82%. Chandra et al. (2008)

reported that hot water extracts of *Polygonum hydropiper* L. (Polygonaceae) and *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) killed 87.6 and 94.5% of *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae). We found similar mortalities of 36 and 82% that varied according to exposure time at different concentrations. Moawad and Al-Barty (2011) studied ethanol and water extracts of medicinal and ornamental plants and found that ethanol extracts of *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) at a concentration of 0.015% were repellent (75%) and insecticidal (79.5%) against *Aphis punicae* Passerini (Hemiptera: Aphididae). We showed that high-polarity extracts were effective. Kim et al. (2005) evaluated methanolic extracts of 28 samples of 22 plant species against various insects, including the aphids *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) and *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae); extracts of leaves of *Ficus carica* L. (Moraceae) and fruit of *Gardenia jasminoides* J. Ellis (Rubiaceae) had powerful insecticidal effects, killing 97.6% of the two species of aphids. Pavela et al. (2009) tested the effect of methanolic extracts against *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) and found the most active extract was from *Impatiens parviflora* DC. (Balsaminaceae) at concentrations of 0.5 and 0.1% that killed 99.7 and 90.0%, respectively, by 54 hours after exposure. Concentrations of 5,000 ppm (= 0.5%) killed 56% by 72 hours.

We know of no previous reports of insecticidal activity of *S. schiedeana* against aphids, and there are few studies of substances isolated from plants of the family Sapindaceae against aphids. Díaz et al. (2015) reported that ethanolic extract of *Dodonaea viscosa* leaves deterred the aphids *R. padi* and *M. persicae*; Lupeol (1), Stigmasterol (2) and Stigmast-1-en-3-ol (3) were isolated, compounds 1 and 3 were active against *M. persicae* and compound (3) had activity against both aphids. In a phytochemical study of Sapindaceae *Allophylus edulis* (A.St.-Hil.), ethanolic extract of branches found several natural products, of which 6,7-epoxycaryophyllene, lupeol, and β -sitosterol were repellent against *M. persicae*.

Our phytochemical study of the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* revealed the presence of alkaloids, flavonoids, and tannins, and HPLC analysis confirmed the main chemical constituents were proanthocyanidins. The phenolic compounds previously have been shown to have biological activity against insects. For example, Muema et al. (2016) identified proanthocyanidins in methanolic extract of *Camellia sinensis* L. Kuntze (Theaceae) that killed 100% larvae at 25 ppm against *Anopheles arabiensis* and *A. gambiae*. In our investigation, proanthocyanidins also were detected in the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* that killed 82% of *M. sacchari*. In conclusion, the aqueous fraction of *S. schiedeana* stems at different concentrations had aphidicidal activity against *M. sacchari*. Polyphenolic compounds in the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* could be related to aphidicidal activity. It is important to identify and isolate the molecules responsible for the activity. Therefore, we suggest a bio-guided phytochemical study. The high polarity of the aqueous fraction of stems of *S. schiedeana* could facilitate development of a commercial botanical insecticide. The overall aim of this research was to use extracts from plant species with bioinsecticidal potential to control insect pests of crops.

Acknowledgment

The study was financed by PROMEP 511-6/17-6413/UAGro-219. A. Zamilpa thanks the IMSS Foundation and Lynna Marie Kiere for her support in English

translation. This article was taken in part from the thesis of Cesar Sotelo-Leyva who is a Ph.D. student in Natural Sciences at the Autonomous University of Morelos.

References Cited

- Ansante, T. F., L. P. Ribeiro, and J. D. Vendramim. 2017. Acute and chronic toxicities of an annonin-based commercial bioinsecticide and a joint mixture with a limonoid-based formulation to the fall armyworm. *Neotrop. Entomol.* 46: 216-222.
- Asiry, K. A. 2015. Aphidicidal activity of different aqueous extracts of bitter apple *Citrullus colocynthis* (L.) against the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: aphididae) under laboratory conditions. *J. Animal Plant Sci.* 25: 456-462.
- Blackman, R. L., and V. F. Eastop. 2000. *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide.* John Wiley & Sons, Chichester.
- Chandra, B., P. K. Surker, and Md. Ruhman. 2008. Aphidicidal activity of some indigenous plant extracts against bean aphid *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae). *J. Pest. Sci.* 81: 153-159.
- Delgado-Ramírez, C. S. M. D. Salas-Araiza, O. A. Martínez-Jaime, J. A. Díaz-García, R. Guzmán-Mendoza, y E. Salazar-Solís. 2016. Consumo de *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae) por *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae) y *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Entomol. Mex.* 3: 369-374.
- Díaz, M., C. E. Díaz, R. G. Álvarez, A. González, L. Castillo, A. González-Coloma, G. Seoane, C. Rossini. 2015. Differential anti-insect activity of natural products isolated from *Dodonaea viscosa* Jacq. (Sapindaceae). *J. Plant Protection Res.* 55: 173-178.
- Ferrucci, M. S., and R. Medina-Lemos. 2013. Nueva combinación para una especie del género *Serjania* (Sapindaceae-Paullinieae) endémica en México. *Acta Botánica Mex.* 104: 19-29.
- Harborne, J. B. 1973. *Phytochemical Methods, a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* Chapman, London.
- Hernández-Arenas, M., A. Trujillo-Campos, L. Hernández-Vázquez, E. J. Barrios-Gómez, y S. G. Ramírez-Rojas. 2016. Incidencia y densidad de población de pulgón amarillo (*Melanaphis sacchari* Zehntner) en híbridos de sorgo en Morelos, México. *Investigación Agropecuaria* 13: 132-140.
- Kim, D., J. D. Park, S. G. Kim, H. Kuk, M. S. Jang, and S. S. Kim. 2005. Screening of some crude plant extracts for their acaricidal and insecticidal efficacies. *J. Asia-Pacific Entomol.* 8: 93-100.
- Lock, O. 1994. *Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales.* Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú PUEP Lima, Lima (Perú).
- Martínez, A. M., A. J. Aguado-Pedraza, E. Viñuela, C. L. Rodríguez-Enríquez, P. Lobit, B. Gómez, and S. Pineda. 2017. Effects of ethanolic extracts of *Argemone ochroleuca* (Papaveraceae) on the food consumption and development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol.* 100: 339-345.
- Maya, V., and L. A. Rodríguez-del-Bosque. 2014. Pulgón amarillo: una nueva plaga del sorgo en Tamaulipas. *Desplegable para productores* No. MX-0-310301-

- 32-03-13-48-30. INIFAP, Campo Experimental Río Bravo. Río Bravo, Tamps., México.
- Medrzycki, P., R. Montanari, L. Bortolotti, A. G. Sabatini, E. Maini, and C. Porrini. 2003. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. *Bull. Insectol.* 56: 59-62.
- Miranda, F., and E. Hernández. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín Sociedad Botánica México* 28: 29-179.
- Moawad, S. S., and A. M. F. Al-Barty. 2011. Evaluation of some medicinal and ornamental plant extracts toward pomegranate aphid, *Aphis punicae* (Passerini) under laboratory conditions. *Afric. J. Agric. Res.* 6: 2425-2429.
- Muema, J. M., J. L. Bargul, S. G. Nyanjom, J. M. Mutunga, and S. N. Njeru. 2016. "Potential of *Camellia sinensis* proanthocyanidins-rich fraction for controlling malaria mosquito populations through disruption of larval development". *Parasites & Vectors* 9: 1-10.
- Pavela, R., N. Vrchotova, and B. Šerá. 2009. Repellency and toxicity of three Impatiens species (Balsaminaceae) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *J. Biopesticides* 2: 48-51.
- Ramos, M. A., D. Romo-Asunción, D. E. Martínez González, A. S. Gaspar Badillo, S. López Ordáz, J. R. Pacheco Aguilar. 2014. Evaluación del extracto clorofórmico de jarilla (*Senecio salignus*) contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomol. Mex.* 1: 126-129.
- Rodríguez del Bosque, L. A., and A. P. Terán. 2015. *Melanaphis sacchari* (Hemiptera: Aphididae): a new sorghum insect pest in Mexico. *Southwest. Entomol.* 40: 433-434.
- Salinas-Sánchez, D., E. Jiménez-Ferrer, V. Sánchez-Sánchez, A. Zamilpa, M. González-Cortazar, J. Tortoriello, and M. Herrera-Ruiz. 2017. Anti-inflammatory activity of a polymeric proanthocyanidin from *Serjania schiedeana*. *Molecules* 22: 1-19.
- SAS Institute. 2002. SAS System for Windows release 9.0. SAS Institute, Cary, NC.
- Singh, B. U., P. G. Padmaja, and N. Seetharama. 2004. Biology and management of the sugarcane aphid, *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Homoptera: Aphididae), in sorghum: a review. *Crop Protection* 23: 739-755.
- Stahl, E. 1973. Drug analysis by chromatography and microscopy. *Agris Records*, FAO, USA.
- Tejeda-Reyes, M. A., J. F. Díaz-Nájera, J. C. Rodríguez-Maciél, M. Vargas-Hernández, J. F. Solís-Aguilar, S. Ayvar-Serna, J. A. Flores-Yañez. 2017. Evaluación en campo de insecticidas sobre *Melanaphis sacchari* (Zehntner) en sorgo. *Southwest. Entomol.* 42: 545-550.
- Toledo-Hernández, E., V. M. Hernández-Velázquez, G. Peña-Chora. 2018. An artificial diet for the sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari* Zehntner) (Hemiptera: Aphididae) with potential uses for *in vitro* toxicological studies. *Florida Entomol.* 101: 395-398.
- Torres-Quintero, M. C., I. Arenas-Sosa, G. Peña-Chora, V. M. Hernández-Velázquez. 2013. Feeding chamber for *Myzus persicae* culture (Hemiptera: Aphididae). *Florida Entomol.* 96: 1600-1602.
- Villaseñor, J. L. 2016. Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Rev. Mex. Biodiversidad.* 87: 559-902.
- Wagner, H., and S. Bladt. 1996. *Plant Drug Analysis*. Springer, Heilderberg, Germany.