



“Enseñar la Explotación de
la Tierra, no la del Hombre”

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA
AGRÍCOLA**

**PROPIEDADES ENTOMOTÓXICAS DE LOS
EXTRACTOS VEGETALES DE *Azadirachta
indica*, *Piper auritum* Y *Petiveria alliacea*
PARA EL CONTROL DE *Spodoptera exigua***

TESIS

Requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA**

PRESENTA:

DELGADO BARRETO ERIKA

Junio 2011
Chapingo, Estado de México.



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



**"PROPIEDADES ENTOMOTÓXICAS DE LOS EXTRACTOS VEGETALES DE
Azadirachta indica, *Piper auritum* Y *Petiveria alliacea*
PARA EL CONTROL DE *Spodoptera exigua*"**

Tesis realizada por la Ing. Erika Delgado Barreto bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

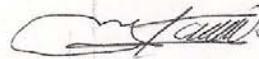
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

Director:



Dra. Maria Del Rosario Garcia Mateos

Asesor:



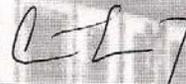
Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada

Asesor:



Dra. Ma. Teresa Martínez Damián

Asesor:



Dr. Cesar Del Carmen Luna Morales

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la ayuda y oportunidad para realizar mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Fitotecnia por permitirme realizar mis estudios de posgrado y forjarme aún mas como profesionista.

A la Dra. Ma. Del Rosario García Mateos, por sus enseñanzas, ejemplo, apoyo y confianza que me brindo día a día en la realización de este trabajo, mil gracias.

A la Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada por sus sabios consejos, apoyo y revisiones en este trabajo.

A la Dra. Ma. Teresa Martínez Damián y al Dr. Cesar Del Carmen Luna Morales, por sus valiosas aportaciones y disposición.

A la Dra. Rosario Melina Barrón Yanez, por sus enseñanzas y sus acertadas contribuciones.

A todos y cada uno de mis profesores de la Maestría en Biotecnología Agrícola, por sus enseñanzas y compartir sus experiencia profesionales.

Al Ing. Noé Adán Estrada Arriaga, por el gran cariño que le tenía a la agricultura.

A mis compañeros de la maestría, por permitirme compartir experiencias y brindarme su amistad.

¡¡¡Mil Gracias!!!

DEDICATORIAS

A mis padres:

Yolanda Barreto González†

José Luis Delgado Sánchez

Por ser el ejemplo para seguir creciendo como persona y profesionalista, son mis ángeles.

A mis hermanos:

Rosa Elvira, Miriam y José Luis

Por la camaradería que nos une a cada instante.

A mis sobrinos:

Alfonso, Rosel, Alberto y Rebeca

Por ser mis grandes amores y sirva para que Ustedes sean aún más grandes, los quiero mucho.

A mis grandes amigas: Lídice y Tania, aunque la distancia nos separe estamos dentro de la misma magia, siempre.

A Oscar Bustillos, Liliana Castillo y Claudia Palominos, que aparecieron en mi vida para ser amigos, cómplices y hermanos en todo momento.

Para mis entrañables amigos con los cuales he compartido muchas alegrías, tristezas y logros, pero estamos unidos por esta gran amistad: Marco Antonio, Mireya, Rogelio, Víctor, Miguel A. y Zuilma.

¡¡¡GRACIAS!!!

TABLA DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	<i>iv</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>v</i>
RESUMEN	<i>vii</i>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVO	3
2.1. Objetivo General.....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
2.3. Hipótesis.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1. Generalidades de la Producción Agrícola Orgánica.....	4
3.2. Cultivo de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	5
3.2.1. Composición y valor nutricional	5
3.2.2. Variedades de tomates.....	6
3.2.3. Tomate uva var. Santa.....	6
3.2.4. Plagas.....	8
3.3. Características del gusano soldado (<i>Spodoptera exigua</i>).....	8
3.3.1. Distribución.....	8
3.3.2. Ciclo biológico.....	9
3.3.3. Importancia.....	10
3.3.4. Manejo agrícola.....	10
3.4. Importancia de los metabolitos secundarios.....	11
3.5. Extractos vegetales en la agricultura.....	13
3.5.1. Efectos de los insecticidas vegetales.....	14
3.5.2. Ventajas.....	17
3.6. <i>Azadirachta indica</i> Juss (Neem)	18

3.6.1. Composición química	18
3.6.2. Actividad Insecticida	19
3.6.3. Usos	20
3.7. <i>Piper auritum</i> (Hoja Santa)	20
3.7.1. Composición química	21
3.7.2. Actividad Insecticida	22
3.7.3. Usos	23
3.8. <i>Petiveria alliacea</i> (Hierba del Zorrillo)	23
3.8.1. Composición química	24
3.8.2. Actividad Insecticida	24
3.8.3. Uso	25
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1. Fase de laboratorio.....	27
4.1.1. Material vegetal.....	27
4.1.2. Preparación de extractos vegetales.....	28
4.1.2.1. Extracto hexánico.....	28
4.1.2.2. Extracto metanólico.....	28
4.1.3. Análisis fitoquímico.....	29
4.1.3.1 Identificación de alcaloides.....	29
4.1.3.2. Identificación de flavonoides.....	29
4.1.3.3. Identificación de terpenoides.....	30
4.1.4. Larvas de gusano soldado (<i>Spodoptera exigua</i>).....	30
4.1.5. Diseño experimental.....	30
4.1.6. Pruebas antialimentaria.....	31
4.1.7. Evaluación de toxicidad <i>in vitro</i>	34
4.2. Fase de campo.....	35
4.2.1. Cultivo de tomate uva var. Santa.....	35
4.2.2. Manejo del cultivo.....	35
4.2.3. Elección, infestación y tratamientos en el cultivo.....	37
4.3. Análisis estadístico.....	39

4.3.1. Variables respuesta.....	39
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
5.1. Identificación fitoquímica de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i>	40
5.1.1. Alcaloides.....	40
5.1.2. Flavonoides.....	41
5.1.3. Terpenoides.....	42
5.2. Pruebas antialimentarias en <i>Spodoptera exigua</i>	45
5.2.1. Índice de disuasión alimentaria (FDI).....	45
5.2.2. Índice de supresión alimentaria (FSI).....	48
5.2.3. Diferencia de peso en larvas de <i>S. exigua</i> 4° instar.....	51
5.2.4. Diferencia de peso en discos foliares con extractos hexánicos y metanólico.....	52
5.3. Pruebas de toxicidad con extractos hexánico y metanólico de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> sobre <i>Spodoptera exigua</i> 4° instar.....	54
5.3.1. Toxicidad en laboratorio.....	54
5.3.2. Toxicidad en campo.....	57
5.4. Concentración Letal Media (CL ₅₀).....	59
5.4.1. CL ₅₀ en laboratorio.....	59
5.4.2. CL ₅₀ en campo	61
VI. CONCLUSIONES.....	64
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	65

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Actividades realizadas en fase de laboratorio y campo.....	26
2	Diseño de tratamientos para pruebas antialimentarias y toxicidad en laboratorio.....	31
3	Rendimiento de extractos hexánico y metanólico en tres especies vegetales.....	40
4	Análisis fitoquímico de extractos hexánicos (H) y metanólicos (M) de tres especies vegetales.....	44
5	Índice de disuasión alimentaria (FDI), índice de supresión alimentaria (FSI), diferencia de peso de larvas (DPL) de <i>S. exigua</i> y diferencia de peso de discos foliares (DPD) con extractos hexánicos y metanólicos.....	45
6	Mortalidad en larvas de <i>S. exigua</i> con extractos hexánicos y metanólicos en laboratorio y campo.....	58
7	CL ₅₀ de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en <i>Spodoptera exigua</i> en laboratorio.....	60
8	CL ₅₀ de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en <i>Spodoptera exigua</i> en campo.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Tomate uva var. Santa.....	7
2	Semilla Tomate Uva var. Santa.....	7
3	Ciclo Biológico de <i>Spodoptera exigua</i>	9
4	Vías generales del metabolismo secundario de las plantas, que producen los tres tipos generales de compuestos secundarios: Productos nitrogenados, compuestos fenólicos y terpenoides.....	12
5	Material Vegetal.....	28
6	Peso de discos foliares y vista en cajas petri.....	32
7	Peso de larvas y vista en cajas petri.....	33
8	Siembra en invernadero.....	36
9	Elección de plantas.....	37
10	Aislamiento de plantas.....	38
11	Cromatografía de alcaloides con extractos hexánico (A) y metanólico (B) de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i>	41
12	Cromatografía de flavonoides con extractos hexánico (A) y metanólico (B) de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i>	42
13	Cromatografía de terpenoides con extractos hexánico (A) y metanólico (B) de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i>	43
14	Índice de Disuasión Alimentaria (FDI) en larvas de <i>S. exigua</i> con extractos hexánicos.....	46
15	Índice de Disuasión Alimentaria (FDI) en larvas de <i>S. exigua</i> con extractos metanólicos.....	47
16	Índice de Supresión Alimentaria (FSI) en larvas de <i>S. exigua</i> con extractos hexánicos.....	49
17	Índice de Supresión Alimentaria (FSI) en larvas de <i>S. exigua</i> con extractos metanólicos.....	50
18	Diferencia de peso de larva (g) de <i>Spodoptera exigua</i> 4° instar con extracto hexánico.....	51

19	Diferencia de peso de larva (g) de <i>Spodoptera exigua</i> 4° instar con extractos metanólicos.....	52
20	Diferencia de peso de discos foliares (g) con extractos hexánicos.....	53
21	Diferencia de peso de discos foliares (g) con extractos metanólicos.....	54
22	Mortalidad en <i>Spodoptera exigua</i> por efecto de extracto hexánico de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en laboratorio.....	55
23	Mortalidad en <i>Spodoptera exigua</i> por efecto de extracto metanólico de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en laboratorio....	56
24	Mortalidad en <i>Spodoptera exigua</i> por efecto de extracto metanólico de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en campo.....	57
25	CL ₅₀ de extractos de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en laboratorio.....	59
26	CL ₅₀ de extractos de <i>P. alliacea</i> , <i>P. auritum</i> y <i>A. indica</i> en <i>Spodoptera exigua</i> en campo.....	61

**PROPIEDADES ENTOMOTÓXICAS DE LOS EXTRACTOS VEGETALES DE
Azadirachta indica, *Piper auritum* Y *Petiveria alliacea* PARA EL CONTROL DE
*Spodoptera exigua***

**ENTOMOTOXIC PROPERTIES OF PLANT EXTRACTS OF *Azadirachta indica*, *Piper auritum*
AND *Petiveria alliacea* FOR THE CONTROL OF *Spodoptera exigua***

Delgado Barreto, E.¹; García-Mateos, M. R.^{2*}

RESUMEN

Se evaluó el efecto antialimentario y la toxicidad de los extractos de *Azadirachta indica*, *Piper auritum* y *Petiveria alliacea* en larvas de *S. exigua* en condiciones de laboratorio y en un cultivo orgánico de tomate uva var. Santa a campo abierto. El trabajo se realizó con los extractos hexánico y metanólico de semillas de *A. indica* y hojas de *P. auritum* y *P. alliacea* aplicados en diferentes concentraciones en larvas 4to instar de *S. exigua*. Las variables que se evaluaron fueron índice disuasión alimentaria (FDI), porcentaje de mortalidad y CL₅₀. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias de LSD Fisher. El mayor efecto disuasivo alimentario se encontró en el extracto metanólico de neem, seguido por el de *P. auritum* y el menor efecto en el extracto de *P. alliacea*. Los porcentajes de mortalidad para *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliacea* fueron 38.88, 28.8, 21.22 %, respectivamente, en condiciones de laboratorio, la misma tendencia se encontró en campo. La CL₅₀ mostró que el extracto metanólico de *A. indica* fue el más tóxico (4.03 ppm), le siguió en efectividad el de *P. auritum* (42.08 ppm). En campo, la CL₅₀ de los extractos metanólico de *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliacea* fueron 9.61, 21.21 y 104.1 ppm, respectivamente. En el presente estudio se encontró que son marcadas las diferencias que existen entre las variaciones de toxicidad por especie y el tipo de extracto.

Palabras clave adicionales: *Azadirachta indica*, disuasión alimentaria, extractos, *Piper auritum*, *Petiveria alliacea*, toxicidad.

ABSTRACT

The antifeedant effect and toxicity of *Azadirachta indica*, *Piper auritum* and *Petiveria alliacea* extracts on *Spodoptera exigua* larvae were evaluated under laboratory conditions and on an organically-grown crop of grape tomatoes, var. Santa, in an open field. The work was carried out with hexane and methanol extracts of seeds of *A. indica* and leaves of *P. auritum* and *P. alliacea* applied in different concentrations in the 4th instar larvae of *S. exigua*. The variables evaluated were feeding deterrence index (FDI), mortality rate and LC₅₀. The experimental design was completely random with five replications. An analysis of variance (ANOVA) and Fisher's LSD means comparison test were performed. The greatest antifeedant effect was found in the methanolic extract of neem, followed in descending order by that of *P. auritum* and *P. alliacea*, respectively. The mortality rates for *A. indica*, *P. auritum* and *P. alliacea* were 38.88, 28.88 88 and 21.22 %, respectively, under laboratory conditions; the same trend was found in the field. The LC₅₀ showed that the methanol extract of *A. indica* was the most toxic (4.03 ppm), followed in effectiveness by that of *P. auritum* (42.08 ppm). In the field, the LC₅₀ of methanol extracts of *A. indica*, *P. auritum* and *P. alliacea* were 9.61, 21.21 and 104.1 ppm, respectively. In this study, marked differences were found between variations in toxicity by species and type of extract.

Additional key words: *Azadirachta indica*, feeding deterrence, extracts, *Piper auritum*, *Petiveria alliacea*, toxicity.

¹ Autor de la tesis, requisito para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Biotecnología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo. México.

^{2*} Profesor-investigador. Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. Chapingo. México.

I. INTRODUCCIÓN

Los esfuerzos por evitar las pérdidas económicas en la producción de algunos cultivos por la infestación de insectos plaga ha conducido al uso indiscriminado de insecticidas sintéticos, ocasionando problemas de contaminación en el planeta (Lyndon *et al.*, 1997; Zapata *et al.*, 2009), así como, un aumento potencial de la resistencia de insectos plaga (Lagunes y Villanueva, 1999), como es el caso del género *Spodoptera* (Meagher *et al.*, 2008, Liburd *et al.*, 2000). El gusano soldado (*Spodoptera exigua* Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) es una plaga que afecta aproximadamente 130 cultivos hortícolas de 30 familias diferentes (Markx-Jacques *et al.*, 2008; Saeed *et al.*, 2009), entre ellos el cultivo de tomate (Liburd *et al.*, 2000), lo que repercute en daños económicos considerables (Markx-Jacques *et al.*, 2007).

La necesidad de aplicar un método del control de plagas sin afectar el medio ambiente, puede ser el uso de extractos vegetales por ser biodegradables y no crear resistencia en insectos (Regnault-Roger *et al.*, 2004). El estudio de la actividad insecticida de extractos vegetales y fitoquímicos se ha intensificado debido a la demanda de alimentos orgánicos (Souza *et al.*, 2009; Matos Nero *et al.*, 2004) y a las exigencias actuales de la defensa fitosanitaria de los productos hortícolas (Regnault-Roger *et al.*, 2004). La actividad tóxica y la eficacia de extractos vegetales en insectos plaga ha contribuido a la identificación de metabolitos secundarios con actividad insecticida. Los diversos efectos biológicos de fitoquímicos ha llevado a reevaluar sus diferentes funciones en las plantas, especialmente en el contexto de las interacciones ecológicas (Campbell *et al.*, 2002; Inderjit *et al.*, 1999), y en el desarrollo de mecanismos de defensa contra insectos (Wink, 2003; Taiz y Zeiger, 2002). Sin embargo, muchos metabolitos secundarios, como insecticidas o disuasorios alimentarios, aún se encuentran en estudio (Ulrichs *et al.*, 2008). Ingredientes activos se han identificado en las familias Meliáceae, Rutáceae, Asteráceae, Labiatae y Piperáceae (Ulrichs *et al.*, 2008; Reanult-Roger *et al.*, 2004) *Rutaceae*, *Phytolaccaceae*, *Solanáceae* (Souza *et al.*, 2009).

La familia Meliáceae presenta la especie *Azadirachta indica* Juss (Neem), contiene azadiractina que es el principal ingrediente activo y sus derivados del tipo limonoide, son responsables de diversas propiedades fisiológicas (inhibidor de crecimiento, repelente, actividad insecticida y antialimentaria) en diferentes familias de insectos (Mordue, 2004; Reed y Majumdar, 1998; Pavela *et al.*, 2009; Batabyal *et al.*, 2009). El género *Piper* que pertenece a la familia *Piperáceae*, está representada por al menos 700 especies aromáticas (Olivero-Verbel *et al.*, 2009), y presentan propiedades insecticidas, repelentes y antialimentarias por la presencia de aceites esenciales (metabolitos volátiles) y piperamidas (Scott *et al.*, 2008). En particular, *Piper auritum* Kunth, conocida como Hoja Santa, acuyo, mumo (Maldonado *et al.*, 2004) es una especie aromática originaria de México y distribuida hasta Colombia. *Petiveria alliacea* L. (*Phytolaccaceae*) llamada comúnmente ajillo, Hierba del Zorrillo por su olor característico resultado de la presencia de compuestos de azufre (De Souza *et al.*, 1990; Bernal y Correa, 1998), es endémica de México, Islas del Caribe, Centro y Sudamérica (García *et al.*, 2006). Es una de las plantas medicinales más usadas en América Latina, se encuentra descrita la actividad insecticida, acaricida, bactericida (Lyndon *et al.*, 1997; Benavides *et al.*, 2001).

El estudio de la actividad antialimentaria y/o insecticida de extractos vegetales en diversas especies del género *Spodoptera* se encuentra documentado (Ulrichs *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2009; Mordue, 2004). Sin embargo, no se ha estudiado en *S. exigua* la actividad insecticida de las especies de *Azadirachta indica*, *Piper auritum* y *Petiveria alliacea*. El presente estudio evalúo el efecto tóxico y la actividad antialimentaria de los extractos hexánico y metanólico de *Azadirachta indica*, *Piper auritum* y *Petiveria alliacea* en larvas de 4^o instar de gusano soldado (*Spodoptera exigua*) en laboratorio y en un cultivo de tomate uva var. Santa a campo abierto, con la finalidad de encontrar una alternativa para el control de la plaga que afecta el rendimiento del este cultivo orgánico, sin contaminar el medio ambiente.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antialimentario y tóxico de los extractos vegetales hexánico y metanólico de *Petiveria alliacea*, *Piper auritum* y *Azadirachta indica* en laboratorio y campo para el control de gusano soldado (*Spodoptera exigua*, 4° instar).

2.2. Objetivos específicos

1. Evaluar la actividad antialimentaria de los extractos hexánico y metanólico de tres especies vegetales.
2. Evaluar el porcentaje de mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) de los extractos hexánico y metanólico de tres especies vegetales en gusano soldado (*Spodoptera exigua* 4° instar).
3. Realizar un análisis fitoquímico preliminar de las tres especies vegetales.

2.3. Hipótesis

1. La actividad antialimentaria de gusano soldado (*Spodoptera exigua*), en laboratorio mostrará un efecto diferente entre los extractos hexánico y metanólico y entre especies.
2. En condiciones de laboratorio y campo, los porcentajes de mortalidad y la concentración letal media (CL₅₀) en gusano soldado (*Spodoptera exigua*), variará conforme se aumente la concentración de los extractos hexánico y metanólico de *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliacea*.
3. La composición química de las tres especies vegetales será diferente en los extractos hexánico y metanólico.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Generalidades de la producción agrícola orgánica

El crecimiento de la industria en alimentos orgánicos a nivel mundial ha sido dramático en las últimas dos décadas. Esto se estima porque las ventas orgánicas de hortalizas han aumentado casi 20 % anualmente desde 1990 y en 2005, las ventas al consumidor han alcanzado 13.8 mil millones de dólares a nivel mundial. La producción orgánica se originó sobre todo en pequeños ranchos con la distribución del producto fresco. El sistema actual es una combinación de pequeños y grandes productores, redes de distribución local y global, incluyendo una gran variedad de productos como frutas, carnes, lácteos y alimentos procesados (Winter y Davis, 2006).

La diferencia que existe entre la producción convencional y orgánica varía en el manejo del suelo o sustrato, prácticas de fertilización y métodos de control en problemas fitosanitarios (Dodson *et al.*, 2002). En la actualidad existen normas internacionales de productos orgánicos (NOP, Programa Nacional Orgánico), las cuales contemplan y regulan la formulación de los productos a partir de compuestos orgánicos (Navejas, 2002).

Los cuatro problemas principales que enfrenta la agricultura orgánica en México y en algunos lugares del mundo son (Winter y Davis, 2006):

1. La comercialización debido a la oferta y demanda en función del suministro constante de producto.
2. Las limitantes ambientales debido a las aspersiones aéreas de insecticidas de síntesis, en áreas aledañas a las orgánicas, repercutiendo en la contaminación de éstas, así como la sobre explotación de los suelos.
3. Los costos de producción, debido a que la mayoría de los productos autorizados son importados y por consiguiente de precio elevado.

-
4. La insuficiencia de capacitación e investigación origina que los productores recurran a técnicos y/o instituciones extranjeras.

3.2. Cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*)

El tomate (*Solanum lycopersicum*), se ha convertido en una de las hortalizas más importantes a nivel mundial como fuente de alimento. Según datos oficiales, representa más del 6% de la producción agrícola nacional de cultivos anuales con una derrama económica de más de 5 billones de pesos al año. Debido a lo anterior se ubica como el quinto cultivo más importante en México (Dodson *et al.*, 2002).

El tomate es una planta herbácea perenne, cultivada anualmente y sensible al frío. Las variedades precoces (las que florecen y fructifican más rápido) suelen alcanzar una longitud de 1.2 m; en cambio, las tardías, casi siempre son más altas y llegan a los 2.5 m de longitud. El hábito de crecimiento es muy diverso, las plantas jóvenes son erguidas y en estado adulto son semi-erguidas o decumbentes, esto cuando el tallo no es lo suficientemente rígido como para soportar el peso de las hojas, ramas secundarias y frutos, por lo que necesita ser tutorado por alguna estructura para sostenerse (Iglesias, 1988).

La producción orgánica de tomate en México a gran escala se lleva a cabo en Baja California, Sonora y Sinaloa con rendimientos no tan eficientes, por lo que es conveniente producir en invernadero buscando rendimientos mucho más elevados, con la aplicación de insumos orgánicos para garantizar la obtención de un producto orgánico y totalmente inocuo (Castellanos *et al.*, 2000).

3.2.1. Composición y valor nutricional

El tomate es un alimento con escasa cantidad de calorías, 100 gramos de tomate aportan solamente 18 kcal. La mayor parte de su peso es agua y el segundo constituyente en importancia son los carbohidratos. Contiene azúcares simples

que le confieren un ligero sabor dulce y algunos ácidos orgánicos que le otorgan el sabor ácido característico. El tomate es una fuente importante de minerales como potasio y magnesio. Su contenido en vitaminas destacan la B1, B2, B5 y la vitamina C. Presenta carotenoides como el licopeno (pigmento que da el color rojo característico al tomate). La vitamina C y el licopeno son antioxidantes con una función protectora al organismo humano (Siller, 2003-2004).

3.2.2. Variedades de tomates

Existe una gran diversidad de variedades de tomate que se producen en México, entre los cuales destacan los tomates roma/saladette, que comúnmente se comercializan: Aztec, Big Beef, Celebrity, Cherry grande, Empire, Firenze, Maya, Puebla y Yaqui. Los tomates cherry que se producen comercialmente: Husky cherry gold, PS112 y Sweet cherry.

Se ha empezado a comercializar un fenotipo diferente de tomates los denominados tomates uva (grape tomatoe), presentando híbridos como Rosalita #5815, Jilieta #6916, Elfin #6249 (Tomatoe growers supply company. 2000-2010. www.tomatogrowers.com consultada: 10 enero 2011) y tomate uva var. Santa que no se comercializa por ser variedad exclusiva de la empresa Santa Sweets, Inc.

3.2.3. Tomate uva var. Santa

El tomate uva var. Santa es producido bajo el esquema orgánico y es ampliamente demandado en el mercado de Estados Unidos (42%), en México poco se consume (Simonne *et al.*, 2006). La pureza de esta variedad, el tamaño pequeño, la dulzura, la piel delgada y la textura firme han sido reconocidos con el éxito del "tomate Santa", que tiene una larga vida de anaquel, a diferencia de la mayoría de los tomates "cherry" (Grape tomatoe Santa. www.santasweets.com consulta: 9 julio 2009).

La semilla fue desarrollada en Taiwán por la empresa “Know You Seed” y vendida por primera vez en Estados Unidos en 1997 a la empresa Santa Sweets, Inc. El híbrido F1 representa la primera generación creada cruzando dos variedades originales diferentes. La descendencia produce una nueva y uniforme variedad de semilla con características específicas de cada padre. La pureza de la variedad es la razón por la cual se denomina “el auténtico tomate uva” (Figura 1).



Figura 1. Tomate uva var. Santa

Estos tomates no están modificados genéticamente en ninguna forma y no es posible cultivar el mismo tomate a partir de su semilla (Figura 2).



Figura 2. Semilla Tomate Uva var. Santa.

Existen otras compañías de semillas que producen híbridos usando la semilla del tomate uva var. Santa, desarrollando de esa manera la F2. Esta variedad es inferior por la razón que desarrolla menor °Brix y diferente sabor (www.santasweets.com, consulta: 9 julio 2009).

3.2.4. Plagas

Dentro de los factores más importantes que afectan la producción del tomate destacan los insectos plaga. Cada día la situación de éstos insectos se torna más difícil, las plagas secundarias se tornan primarias; además, surgen nuevas plagas que anteriormente no se encontraban en la región. Los insectos que mayor daño causan a este cultivo son: minador de la hoja *Liriomyza sativae* Blanchard, mosquita blanca *Bemisia tabaci* Genadius y *B. argentifoll sp.*, gusano soldado *Spodoptera exigua* Hübner, gusano alfiler *Keiferia lycopersicella* Walter, entre otros (Merkx-Jacques *et al.*, 2008).

En los últimos años el gusano soldado (*S. exigua*) es considerado como una de las plagas más importantes de las hortalizas, esto se debe a que es difícil de controlar, se presenta en las altas poblaciones, causa daño en follaje y frutos (Gonzales *et al.*, 2010).

3.3. Características del gusano soldado (*Spodoptera exigua*).

Spodoptera exigua (Hübner; Lepidoptera: Noctuidae) clasificado en el reino animal, Phylum Artropoda, Clase Insecta, Familia Noctuidae, ha cobrado gran importancia en los últimos años debido a su proliferación en muchos cultivos, tal vez provocada por la dificultad en su control con insecticidas convencionales (Merkx-Jacques *et al.*, 2008).

3.3.1. Distribución

El gusano soldado (*Spodoptera exigua*), es un insecto plaga polífago con una distribución en todo el mundo, es considerada un plaga seria en vegetales y flores.

Es una especie migrante que recorre grandes distancias en Asia, Europa y Norte y sur de América. Diferentes plantas hospederas juegan un rol importante para el incremento y brotes de este insecto plaga. La presencia de larvas inmaduras en cualquier cultivo no implica necesariamente que la planta está invadida por la plaga (Saeed *et al.*, 2009).

3.3.2. Ciclo biológico

La larva de *Spodoptera exigua*, es de color verde con líneas longitudinales de un tono más claro y dos puntos negros a los lados de la parte anterior del cuerpo; llega a medir hasta 35 mm de largo. El ciclo de vida de este insecto tiene varios estadios los cuales comprenden: la etapa de huevo 3 a 5 días, la etapa larvaria en cambio dura de 10 a 16 días y antes de llegar a la edad adulta, *Spodoptera exigua* debe pasar por una última etapa llamada pupa, la cual tiene una duración de 7 días (Figura 3).

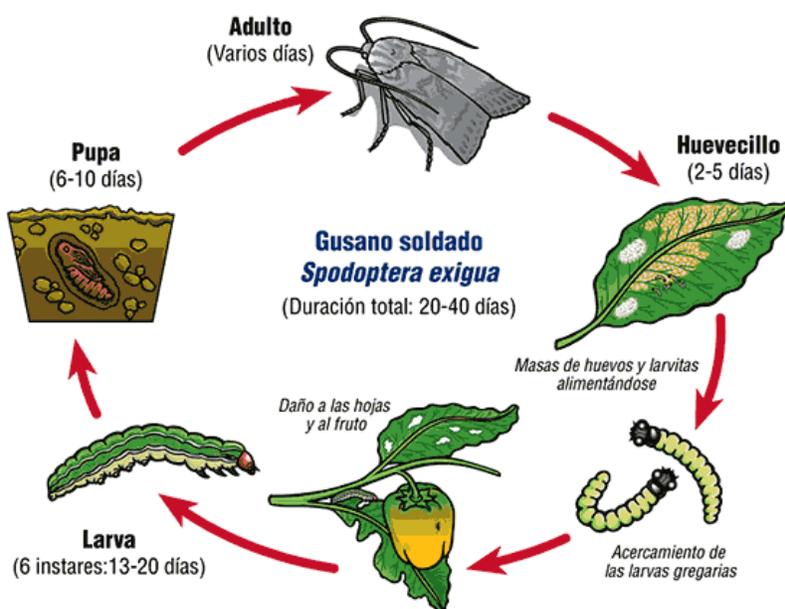


Figura 3. Ciclo Biológico de *Spodoptera exigua*.

El adulto, una palomilla café grisáceo con una envergadura de 5 mm, tiene una mancha central pálida o anaranjada en forma circular, deposita sobre las hojas

masas de huevecillos (plastonos) recubiertas por pelos blancos, preferentemente en el envés de los cuales salen las larvas a alimentarse mientras son jóvenes, carcomiendo las hojas; ya más grandes las perforan y por último las larvas más grandes se dirigen a los frutos devorándolos desde el interior y provocando su caída.

Los adultos son palomillas de hábitos nocturnos y crepusculares. Los daños pueden clasificarse de la siguiente forma: daños ocasionados al follaje y daños ocasionados a los frutos (Merkx-Jacques *et al.*, 2008).

3.3.3. Importancia

El uso frecuente de insecticidas sintéticos ha ocasionado que aumente potencialmente el desarrollo de la población de *Spodoptera*, así como su resistencia (Meagher *et al.*, 2008). Su ataque comprende un sin número de cultivos agrícolas, aunque se le combate más en las hortalizas, principalmente en los cultivos de papa, tomate, soya, arroz y algodón.

Esta plaga afecta a más de 130 plantas cultivadas que representan al menos 30 familias diferentes, lo que repercute en daños económicos considerables (Merkx-Jacques *et al.*, 2008). Su ataque ocasiona baja en el rendimiento y calidad, provocando rechazo en los embarques de exportación, no solo por los frutos dañados sino por la presencia de larvas en ellos.

3.3.4. Manejo agrícola

El gusano soldado (*S. exigua*), causa serios problemas en densidades altas del cultivo de tomate; el uso frecuente de insecticidas selectivos para controlar la población se ha incrementado por lo que su desarrollo y resistencia se ha hecho presente. Los insecticidas biológicos incluyendo *Bacillus thuringiensis* (Bt), que contiene la endotoxina CryIC, ha sido evaluada en especies de *Spodoptera* reportando alta eficacia, mostrando que productos de *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki*

(Dipel[®] 2X y Javelin[®]) incrementan la mortalidad de la larva (Liburd *et al.*, 2000). Los compuestos botánicos constituyen una alternativa antigua para el control de los insectos plaga, ya que en la actualidad un gran número de especies vegetales pueden suministrar sustancias para la producción de insecticidas (Rossetti *et al.*, 2008).

3.4. Importancia de los metabolitos secundarios

Los compuestos químicos sintetizados por las plantas realizan determinadas funciones, como dispersión de semillas, defensa frente a determinadas agresiones o la captación de los insectos polinizadores, son un elemento importante y necesario ya que en el reino vegetal representan una ventaja competitiva. Cada familia de plantas utiliza precursores químicos comunes originando diferentes resultados. También son importantes para los humanos, pues presentan incontables aplicaciones en los campos de la farmacología, industria agrícola, de alimentos y la cosmética (Buchanan *et al.*, 2000).

El reconocimiento de propiedades biológicas en los metabolitos secundarios ha alentado el desarrollo de este campo, por ejemplo en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas. Además, la creciente apreciación de diversos efectos biológicos de los metabolitos secundarios ha llevado a reevaluar los diferentes roles que poseen en las plantas especialmente en el contexto de las interacciones ecológicas (Campbell *et al.*, 2002).

La diversidad del metabolismo vegetal es el origen de varias decenas de millares de estructuras que pueden agruparse en tres grandes categorías: compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides. Proceden principalmente de varias rutas biosintéticas: ácido shikímico, acetyl-CoA, ácido mevalónico y de algunos aminoácidos, por lo que existen lazos estrechos entre las grandes funciones fisiológicas de los vegetales (fotosíntesis y respiración) y la producción de metabolitos secundarios potencialmente alelopáticos (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

La biosíntesis de los metabolitos secundarios parte del metabolismo primario de las plantas, en la Figura 4 se presentan las vías generales de sus rutas biosintéticas.

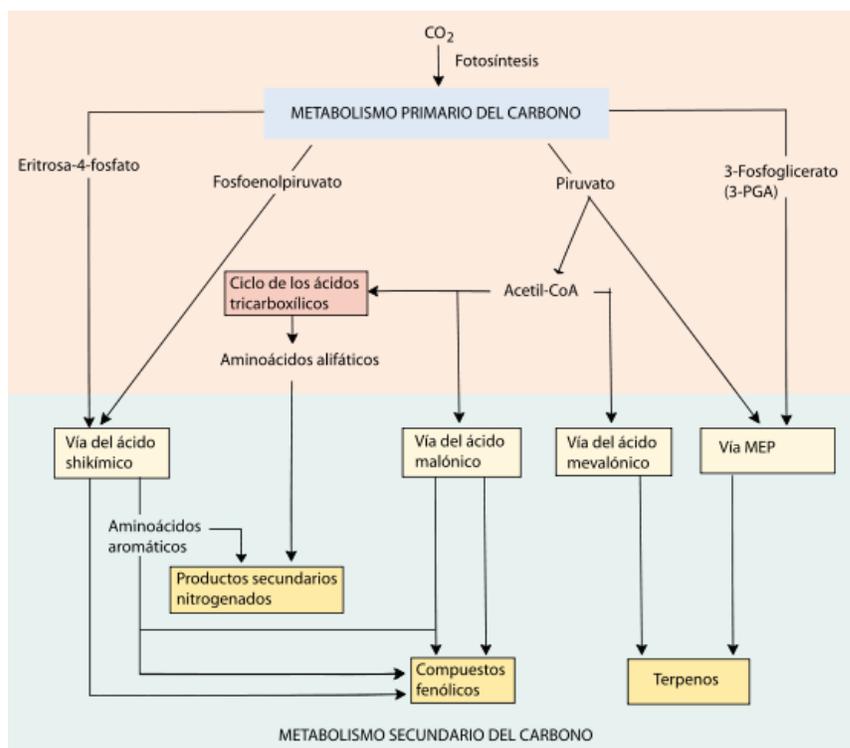


Figura 4. Vías generales del metabolismo secundario de las plantas, que producen los 3 tipos generales de compuestos secundarios: Productos nitrogenados, compuestos fenólicos y terpenoides (Taiz y Zeiger., 2002).

Las plantas, organismos sésiles, están obligadas a discriminar entre los diferentes retos que les plantea su entorno y responder a ellos. Las respuestas a su ambiente biótico y abiótico permite la mejor distribución de sus recursos para crecer, reproducirse y defenderse. Gran parte de las reacciones de defensa se reflejan en una diversidad bioquímica que tienen muy pocos paralelos con otros grupos de organismos, de hecho el repertorio bioquímico de las plantas es único.

Considerando las interacciones entre plantas e insectos, ciertos compuestos con estructuras muy similares pueden ejercer actividades disimiles, desde insecticidas, repelentes o incluso atractivos (Vivanco *et al.*, 2005).

Las plantas son capaces de sintetizar una amplia gama de compuestos químicos diferentes que proporcionan nuevas fuentes de insecticidas naturales (Isman, 2006).

En la actualidad, se han realizado estudios con diversas familias vegetales: *Meliaceae*, *Annonaceae*, *Rutaceae*, *Labiataeae*, *Cannellaceae*, *Phytolaccaceae*, *Sapindaceae*, *Solanaceae*, *Astereaceae*, *Piperaceae* entre otras (De Souza *et al.*, 2009) que pueden suministrar información de sustancias con acción insecticida, fungicida o herbicida.

3.5. Extractos vegetales en la agricultura

El uso extensivo e indiscriminado de insecticidas sintéticos ha ocasionado contaminación en suelo y agua, causando efectos tóxicos sobre organismos benéficos, personas y otros vertebrados, ha generado el desarrollo de resistencia en los insectos plaga que se pretendía controlar (Rossetti *et al.*, 2008). Debido a esto, se ha iniciado la búsqueda de nuevos insecticidas que sean compatibles con el medio ambiente y económicos.

En las últimas dos décadas se ha enfatizado el desarrollo de nuevos pesticidas naturales, los cuales pueden sustituir a los pesticidas sintéticos. La actividad de extractos naturales en insectos han sido estudiados y con doble demanda por la producción de productos orgánicos y la selectividad de enemigos naturales (De Souza *et al.*, 2009).

Sin embargo, es difícil saber exactamente dónde y en qué momento empezaron a utilizarse en forma sistemática plantas o extractos de las plantas en la protección de los vegetales y con más generalidad, en la agricultura (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

3.5.1. Efectos de los insecticidas vegetales

Los metabolitos de algunas plantas producen efectos tóxicos al ser ingeridos por los insectos, varios documentos han reportado propiedades entomotóxicas de extractos crudos en diferentes especies vegetales (Ulrichs *et al.*, 2008; Regnault-Roger *et al.*, 2004).

Los extractos actúan de varias maneras, ya sea paralizando el sistema nervioso o deteniendo la respiración del insecto; una de las características importantes de estos insecticidas, es que penetran la cutícula y no necesitan ser ingeridos; por otro lado tienen una vida muy corta (horas o días), por lo que es indispensable que el insecto sea tocado por las gotas del insecticida (Lagunes y Villanueva, 1999).

Para que un compuesto cause un efecto adverso es necesario que penetre en el organismo. La exposición depende de la cantidad y tipo de compuestos, periodo de desarrollo en el cual éste afecta al receptor de la exposición (plaga y/o bacteria). Aunque los productos naturales aplicados de manera exógena deben considerarse como no naturales desde el momento en que la concentración a la que se utiliza es un biotopo determinado que supera la concentración en el estado natural. Es imperativo que un pesticida natural se someta a numerosos estudios bioquímicos (estudios del modo de acción) y químicos (síntesis total y modelización de análogos sintéticos) (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

Se ha estudiado numerosos metabolitos secundarios con actividad antialimentaria en insectos (Vivanco *et al.*, 2005). La mayor parte de estos metabolitos presentan otras propiedades biológicas, entre las que aparecen con frecuencia la actividad insecticida o, incluso, alteraciones hormonales. Algunos compuestos se reconocen generalmente al nivel de los receptores gustativos por ello han sido una herramienta ideal para comprender los mecanismos moleculares de reconocimiento de las señales químicas por las papilas gustativas de los insectos y comprender los fenómenos de reconocimiento de la planta hospedante (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

La ingestión de metabolitos secundarios puede afectar la nutrición de los insectos, que pueden medirse utilizando diferentes índices nutricionales tales como el consumo relativo, tasas y eficiencia en crecimiento (Ulrichs *et al.*, 2008).

Rossetti *et al.* (2008) evaluaron la actividad de los extractos de *Melia azedarach* L. en larvas de *Spodoptera eridania* Cramer (Lepidoptera: Noctuidae), los resultados indicaron que estos presentaron actividad antialimentaria y se han incorporado en programas de manejo integral de plagas.

Los metabolitos que inducen en los insectos una disminución en la ingesta alimentaria, o inhibición del reflejo de esta ingesta, no debe considerarse en forma general como pesticida. La inhibición de la ingesta alimentaria, incluso aunque sea fácilmente observable y cuantificable, probablemente sea la traducción o la consecuencia de una actividad biológica ampliamente más compleja que una simple emisión de un mensaje de alerta como consecuencia del reconocimiento de una molécula a nivel de los receptores gustativos del insecto, por lo que un efecto antialimentario está presente.

Aunque la mayoría de los extractos de especies vegetales que se utilizan como insecticidas no eliminan al insecto por intoxicación sino que generalmente inhiben el desarrollo normal de estos al actuar como repelentes o disuasivos de alimentación u ovoposición (Silva *et al.*, 2002).

Zapata *et al.* (2009) señalan que el índice de supresión e índice de disuasión pueden medir la actividad antialimentaria en insectos plaga, por lo cual el índice de supresión alimentaria (FSI), evalúa el potencial de una sustancia que inhibe la alimentación cuando no hay otra fuente de alimentos y se utiliza la siguiente fórmula:

$$(FSI) = 100 [(Cv-(C+T) / Cv]$$

Donde:

FSI= Índice de supresión alimentaria (siglas en inglés)

T = Peso de Disco tratado con extracto

CV = Variable control (peso de disco sin extracto)

C = Peso de disco del tratamiento control

El índice de disuasión alimentaria (FDI), evalúa el potencial de una sustancia para inducir el cese de alimento al ser degustado por la larva y si continúa la alimentación es una fuente alternativa de alimento, la fórmula para su interpretación:

$$(FDI) = 100 [(C-T) / (C+T)]$$

Donde:

FDI = Índice de disuasión alimentaria (siglas en inglés)

T = Peso de disco tratado con extracto

C = Peso de disco sin extracto

Las moléculas que presentan actividad antialimentaria, en forma general se pueden distinguir con más frecuencia tres clases principales: compuestos poliaromáticos (polifenoles, taninos, flavonoides, etc.), alcaloides y compuestos terpénicos y polihidroxilados (azadiractina, drimanos del tipo poligodial) (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

La dosis necesaria para producir un efecto adverso varía enormemente entre los diferentes compuestos. Para comparar la toxicidad letal, se utilizan las pruebas de CL₅₀ y CL₉₀ (concentración letal), que es concentración que causa la muerte de 50% y 90% de la población expuesta al tóxico (Dennis, 2008).

En el caso de los extractos, Isman (2006) señala que cuando estos contienen compuestos como alcaloides, fenoles y terpenos, presentan acción tóxica al bloquear algún proceso vital del insecto. Los extractos de *Azadirachta indica*,

Melia azedarach, *Brassica alba*, entre otros han mostrado ser efectivos contra larvas del género *Spodoptera* (Martínez y Van Emden, 2001).

El efecto tóxico de extractos de algunas especies vegetales se han estudiado en *Spodoptera frugiperda*. De Souza *et al.* (2009) probaron 12 extractos de la familia Asteraceae. Las especies *Lychnophora ericoides* y *Trichogonia villosa* fueron tóxicas en $97.7 \pm 0,15\%$ en huevos de un día de edad de *S. frugiperda*. Asimismo, extractos de *Vernonia holosenicea*, *Lychnophora ramosissima* y *Chromolaena chaseae* presentaron mayor impacto en *S. frugiperda*, mientras que los de *Eremanthus elaeagnus* y *L. ericoides* fueron más selectivos para otro tipo de insectos, no obstante son escasos los estudios que encuentran para *Spodoptera exigua* (gusano soldado).

3.5.2. Ventajas

Los compuestos botánicos constituyen una alternativa para el control de insectos plaga ya que cuentan con la ventaja de degradarse rápidamente en el ambiente y de ser más específicos que los insecticidas sintéticos; además disminuyen la probabilidad de generar especies resistentes (Rossetti *et al.*, 2008). Son más eco confiables, biodegradables y no residuales en comparación con los pesticidas sintéticos (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

Por otra parte, el uso de compuestos naturales presenta un espectro de toxicidad más estrecho y tienen un impacto ambiental menor. Estos compuestos, cuando se biosintetizan son fácilmente degradados por vías enzimáticas (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

Los compuestos naturales presentes en plantas aromáticas y medicinales están siendo ampliamente utilizados; los avances tecnológicos y de síntesis orgánica han ido desplazando cada vez más a las sustancias artificiales (Castañeda *et al.*, 2007).

La evolución ha dotado a los organismos biológicos con mediadores químicos implicados en la comunicación entre especie (aleloquímicos), presentando una gran variedad de efectos, en los metabolitos secundarios se han identificado numerosas moléculas que presentan una acción defensiva en los vegetales frente al ataque de insectos perjudiciales inventariándose más de 2000 especies dotadas con propiedades insecticidas (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

3.6. *Azadirachta indica* Juss (Neem)

El árbol del Neem, *Azadirachta indica* Juss, familia Meliaceae, es una especie tropical y subtropical de la India y Sudeste de Asia. Varias partes del árbol del Neem han sido utilizadas por indígenas en la cocina, medicina tradicional y como pesticida natural. Los frutos maduros y semillas de Neem presentan un aceite que emiten un fuerte aroma a ajo, algunos atribuyen eficacia y reputación medicinal del aceite de Neem a los compuestos sulfurados que contiene (Kurose y Yatagai, 2005).

Los extractos de Neem actúan en los insectos como efecto antialimentario, inhibidor de crecimiento, prolonga las etapas inmaduras ocasionando la muerte, disminuye la fecundidad y la oviposición, disminuye los niveles de proteínas y aminoácidos en la hemolinfa e interfiere en la síntesis de quitina (Mordue, 2004).

3.6.1. Composición química

Azadiractina, uno de los tres limonoides (triterpenoides) predominante del árbol de Neem, es un bioplaguicida conocido. La bioactividad de la azadiractina en los insectos varía, el insecticida de Neem ha demostrado que tiene un amplio espectro que se caracteriza por efectos antialimentarios y tóxicos en muchas plagas de cultivos agrícolas (Reed y Majumdar, 1998).

Numerosos constituyentes terpénicos: diterpenos (derivados del abietano) y más de cincuenta tetranortriterpenoides: azadiractina, nimbólido, ácido nimbidínico,

azadirona, nimbina, etc., se han identificado en la especie. El más interesante, la azadiractina se comporta como un antinutriente para los insectos (Pavela *et al.*, 2009). La mayor parte de los principios activos se encuentran en la fruta del Neem, semillas, ramas, tallos y corteza de la raíz. Los núcleos de la semilla produce el complejo azadiractina tetranortriterpenoide y sus análogos (Isman, 1997).

3.6.2. Actividad insecticida

La azadiractina se utiliza ampliamente en el medio ambiente como plaguicida seguro para la agricultura, no sólo inhiben el crecimiento y la multiplicación de los insectos sino también que es inofensivo para los animales y los seres humanos. Un número ilimitado en informes de prensa indican que los extractos de Neem son tóxicos para algunos vertebrados y mamíferos e inofensivo a los demás (Reed y Majumdar, 1998).

En las últimas décadas las esperanzas se han depositado sobre el uso de insecticidas botánicos como una alternativa sustentable en la protección fitosanitaria. Extractos del árbol del Neem, *Azadirachta indica* Juss (Meliaceae), son algunos de los insecticidas botánicos más eficientes y se han producido comercialmente algunos agentes (por ejemplo, NeemAzal T/S; Trifolio-M GmbH, en Alemania y Aza Direct distribuido por BASF) que también puede ser utilizado oficialmente en la agricultura orgánica. La alta actividad insecticida se debe a las grandes concentraciones del isómero tetranotriterpenoide de azadiractina A, que está presente en el extracto de semillas de Neem. La azadiractina es bien conocida como un potente inhibidor del crecimiento en insectos fitogenéticos (Pavela, 2007). Inhibe la alimentación y el crecimiento de los insectos pertenecientes a varios órdenes, como Lepidópteros, Dípteros, Ortóptera, Hemíptera, Coleóptera, etc., interviniendo en eventos endocrinos (Pavela *et al.*, 2009).

Diversos insectos plaga presentan diferentes respuestas a la azadiractina en el nivel de disuasión alimentaria (o gustativa), la capacidad de ingerir derivados en los niveles sensoriales es importante en muchas especies de lepidópteros y algunos ortópteros. El producto natural estimula células específicas quimiorreceptoras y también bloquea el disparo de las células receptoras de azúcar, que normalmente estimulan la alimentación (Mordue, 2004).

También se ha demostrado que causa efectos profundos en los procesos reproductivos de los insectos machos y hembras (degenerado ovarios). En los insectos tratados con azadiractina interfiere en la síntesis de vitelogenina de la grasa corporal y su absorción por los huevos lo que resulta en una reducción en la fecundidad y el incremento a la esterilidad (Tanzubil y McCaffrey, 1990).

3.6.3. Usos

El Neem (*Azadirachta indica*) es un árbol de usos múltiples, cuyos productos se han utilizado durante siglos como insecticidas, anticonceptivos, antipirético y propósitos antiparasitarios. También se utiliza como fuente de madera en los programas de reforestación y un proveedor de sombra. El fruto produce aceite que se usa en jabones y detergentes, mientras que otros subproductos se utilizan en abonos (Mordue, 2004).

3.7. *Piper auritum* (Hoja Santa)

La Familia Piperáceae se ha utilizado tradicionalmente como fuente de insecticidas, de especias y fitomedicamentos. Estos usos permiten pensar que esta familia es particularmente bien tolerada por el hombre.

Las Piperáceae se establecen en regiones tropicales y subtropicales en todo el mundo y presenta especies aromáticas usadas en la medicina tradicional. El género *Piper* es el más representativo de esta familia, con más de 700 especies.

Los frutos aromáticos de *Piper* también han sido usados en la medicina tradicional (Olivero-Verbel *et al.*, 2009).

El nombre botánico de la hoja santa es: *Piper auritum* Kunth; con el número de serie taxonómico en ITIS: 504403. Familia de las piperáceas (*Piperaceae*), no tiene sinónimos botánicos, pero sí vulgares: Hoja Santa, acuyo, acoyo, hierba santa, cordoncillo blanco, tlanepa, hoja santa, hoja de anís, mumo, pimienta sagrada, y x-mak-ulam en lengua maya (Maldonado *et al.*, 2004).

La hoja santa es una planta frondosa, que alcanza gran altura, sus hojas son grandes y en forma de corazón, sus flores tienen forma de espiga de color verde pálido a blanco. Se trata de una especie originaria de México a Colombia, habita en climas cálido semicálido y semiseco desde el nivel del mar hasta los 2 000 msnm. Cultivada en huertos familiares, crece a orillas de caminos en vegetación de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, perennifolio y bosque mixto de pino-encino de terreno semiseco (Lees y Burt, 1988).

Los metabolitos secundarios de plantas del género *Piper* tienen varios modos de acción, toxicidad de contacto, sinérgicos, propiedades repelentes y antialimentarias (Scott *et al.*, 2008).

3.7.1. Composición química

Los aceites esenciales en el género *Piper*, son un complejo de compuestos mixtos volátiles, aislados de material vegetal. Químicamente, presenta metabolitos secundarios derivados de terpenos, compuestos oxigenados y algunos compuestos que contribuyen en la actividad biológica (Olivero-Verbel *et al.*, 2009).

Los componentes más abundantes identificados en *Piper auritum* son safrol (91.4%) y miristicina (4.8%). La composición química presenta diferencias en la distribución de compuestos como: monoterpenos, sesquiterpenos oxigenados, fenoles y la presencia de otros compuestos oxigenados (Castañeda *et al.*, 2007).

También incluye amidas insaturadas, flavonoides, aldehídos, propenifenoles y alcaloides (Olivero-Verbel *et al.*, 2009).

3.7.2. Actividad insecticida

La gran variedad del genero *Piper* muestran posibles pistas de actividad insecticida, mientras que muchas plantas tradicionales se utilizan en el control de insectos que son vectores de enfermedades y daños en cultivos almacenados. Se han realizado investigaciones con extractos de semillas de *Piper nigrum*, indicando que las piperamidas fueron las responsables de la toxicidad del extracto para el control en gorgojo del frijol (Scott *et al.*, 2008).

La química y la acción insecticida de las piperamidas ha sido objeto de una cuidadosa revisión. Las amidas presentan toxicidad aguda y propiedades Knock down (simulación de muerte) similares a los piretroides, pero parecen actuar sobre un receptor distinto. Además de las piperamidas bien conocidas, las Piperáceas contienen varios ligandos y otros compuestos secundarios derivados de ácidos benzoicos (Lees y Burt, 1988).

Las piperamidas, se sabe que actúan como neurotoxinas en insectos, se observa inicialmente que modifican la excitabilidad axonal por un efecto sobre las corrientes de sodio. Las amidas lípidos en algún momento se describieron como piretroides; sin embargo más tarde se afirmó que era un mecanismo distinto (Lees y Burt, 1988).

Por otro lado, se ha estudiado que las piperamidas por separado o en combinación, podrían sustituir a los insecticidas de contacto, especialmente en los compuestos neurotóxicos como los carbamatos, organofosforados y los piretroides, por la resistencia que han desarrollado. La combinación de estas amidas dentro de la formulación botánica puede proporcionar la ventaja de todos los anteriormente mencionados, la inhibición de la enzima y baja toxicidad en

mamíferos y así desarrollar productos comerciales que sean aceptados en el mercado global (Scott *et al.*, 2008).

3.7.3. Usos

Se emplea en padecimientos como inflamación, infección de la matriz, para después del parto y para acelerar el parto; dolor de estómago o espasmo, falta de apetito y estreñimiento. Su uso también se indica en enfermedades como asma, laringitis, reumatismo, en llagas, riñones, para la vista, purificar la sangre, en mordeduras de víbora, inflamaciones, dolores musculares, para dar baños a los recién nacidos, contra las lombrices intestinales, susto y quemaduras (Castañeda *et al.*, 2007)

Puede ser utilizada en tintura (por ejemplo para afecciones gastrointestinales o para todo tipo de dolor) o en emplastos (para inflamación o quemaduras en alguna parte del cuerpo) (Maldonado *et al.*, 2004).

3.8. *Petiveria alliacea* (Hierba del Zorrillo)

Petiveria alliacea llamada comúnmente ajillo, Hierba del Zorrillo, es una de las plantas medicinales más usadas en América Latina. El género *Petiveria* es en honor al botánico inglés Petiver y la especie *alliacea* por su característico aroma a ajo (Alonso, 1998).

Esta planta pertenece a la familia *Phytolaccaceae* y es endémica de México, Islas del Caribe, Centro y Sudamérica (García *et al.*, 2006).

Es una planta perenne con aproximadamente un metro de altura. El tallo es delgado y angular, las hojas en posición elíptica. La inflorescencia es en conjuntos delgados y los frutos son lineales. Su crecimiento es silvestre y se reproduce por medio de semillas, estacas y raíces (Bernal y Correa, 1998).

P. alliacea es también conocida como Hierba del Zorrillo por su característico olor resultado de la presencia de compuestos de azufre (De Souza *et al.*, 1990).

3.8.1. Composición química

Esta planta contiene una diversidad biológica de componentes activos tales como petiverina, glicósidos saponicos, triterpenos-isoarborinol, acetato-isoarborinol, cinamato-isoarborinol, esteroides, alcaloides, flavonoides y taninos (Bezerra *et al.*, 2005).

En las hojas de *P. alliacea* se reporta la presencia de esteroides, terpenoides, saponinas, polifenoles y taninos; mas alantoína, nitrato de potasio, ácido linoléico, alcohol lignocérilico, ácido lignocérico, éster lignocérico, ácido nonadecáico, ácido esteárico, ácido palmítico, glucósidos y alcaloides (De Souza *et al.*, 1990).

En el tallo de *P. alliacea* se han detectado los alcaloides alantoína, también presentes en las hojas, trans- metil-4-metoxi-prolina; y los compuestos lipídicos: ácido lignocérico y beta-sitosterol, este último también detectado en la raíz. La raíz contiene además los compuestos azufrados trisulfuro de hidroxil-5-etil-benzilo (Bernal y Correa, 1998).

3.8.2. Actividad insecticida

Presenta actividad insecticida y acaricida en bacterias (*Pasteurella multocida*) e inhibe la actividad de hongos como *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium shaerospermum* y *Saccharomyces cerevisiae* (Benavides *et al.*, 2001).

Estudios de toxicidad aguda en ratones demostraron que el extracto acuoso de la planta administrado oralmente no provocó muertes aún a dosis tan altas como 10 g.kg⁻¹. Administrado por vía intraperitoneal se encontró una dosis letal media de 1672.11 mg.kg⁻¹. Este mismo extracto mostró ausencia de genotoxicidad en *Aspergillus nidulans* (García *et al.*, 2006).

3.8.3. Uso

Estudios etnobotánicos señalan alrededor de 39 usos medicinales para la especie. Es empleada como anticancerígeno, cicatrizante y dolores de cabeza. La raíz molida y la infusión de hojas, son empleadas como antiespasmos, antireumatismo (usado como tópico), antiinflamatorio, entre otros (Bezerra *et al.*, 2005).

La decocción de las hojas utilizada contra la influenza, infecciones gastrointestinales (diarrea), disentería y flatulencias, enfermedades respiratorias como la amigdalitis, asma, bronquitis, gripa, tranquilizantes y diabetes (García *et al.*, 2006).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló en dos fases: laboratorio y campo realizando actividades que se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Actividades realizadas en fase de laboratorio y campo.

FASE	ACTIVIDAD	RESPUESTAS EVALUADAS
Laboratorio	<ul style="list-style-type: none">• Preparación de extractos vegetales	<ul style="list-style-type: none">• Hexánico• Metanólico
	<ul style="list-style-type: none">• Análisis fitoquímico	<ul style="list-style-type: none">• Identificación preliminar de alcaloides, flavonoides y terpenos.
	<ul style="list-style-type: none">• Pruebas antialimentarias	<ul style="list-style-type: none">• Índice de disuasión alimentaria• Índice de supresión alimentaria
	<ul style="list-style-type: none">• Pruebas de toxicidad	<ul style="list-style-type: none">• Porcentaje de mortalidad• Concentración letal (CL₅₀)
Campo	<ul style="list-style-type: none">• Pruebas de toxicidad	<ul style="list-style-type: none">• Porcentaje de mortalidad• Concentración letal (CL₅₀)

La metodología que se evaluó en laboratorio fue basada en los experimentos realizados por Rossetti *et al.* (2008), probando extractos etanólicos de *Melia azedarach* a concentraciones 2, 5 y 10% en larvas de *Spodoptera eridania* 3° instar para evaluar los efectos antialimentarios y tóxicos y Zapata *et al.* (2009), evaluando extractos con hexano, acetona y metanol de *Drimys winteri* utilizando concentraciones de 5 y 10% en larvas de *Spodoptera littoralis* 4 y 5° instar con lo cual evaluaron los efectos antialimentarios por medio del índice de disuasión (FDI) y supresión alimentaria (FSI), por lo cual se reprodujo estas metodologías en

larvas de *Spodoptera exigua* 4° instar aplicando concentraciones 1, 5 y 10% de extractos hexánico y metanólico de *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliacea* para evaluar pruebas antialimentarias y de toxicidad en laboratorio y campo.

4.1. Fase de laboratorio

4.1.1. Material vegetal

1. Las hojas de *Piper auritum* (Hoja Santa) fueron colectadas en el municipio de Actopan, Veracruz. México., en los meses de febrero con temperatura 21.8°C y en marzo 24°C del 2010. Situado a 311 msnm, con un clima cálido subhúmedo Awo(w)(i')gw'', el mes más frío es enero con 21.1°C y el más cálido mayo con 27.3°C, la precipitación media anual es de 860.1 mm (García, 1988).
2. Las semillas de *Azadirachta indica* (Neem), colectadas en el poblado La Brecha, municipio de Guasave, Sinaloa. México., en el mes de marzo (20.7°C) del 2010. Está a 15 msnm y presenta un clima seco muy cálido y cálido BS(h'), la temperatura máxima se presenta en el mes de julio con 29.9°C y el mes más frío en enero con 18.5°C, la precipitación media anual de 392.8 mm (García, 1988).
3. Las hojas de *Petiveria alliacea* (Hierba del Zorrillo), utilizadas fueron colectadas en Veracruz, Veracruz. México., situado a 16 msnm, presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano Aw2(w)(i')w'', presentando la temperatura más cálida en el mes de agosto 27.8°C y el más frío enero 21.5°C, con una precipitación media anual de 1500 mm (García, 1988).

El material vegetal se dejó secar perfectamente a temperatura ambiente para posteriormente molerlo y conservarlo en bolsas de papel etiquetadas hasta su utilización (Figura 5).



Figura 5. Material Vegetal

4.1.2. Preparación de extractos vegetales

Se prepararon dos tipos de extractos: hexánico y metanólico por con cada una de las especies de estudio. Estos solventes presentan diferente polaridad, el hexano es un solvente menos polar utilizado para extraer los compuestos aromáticos y el metanol es mas polar requerido para la extracción de terpenos (Scott *et al.*, 2008). Los compuestos químicos extraídos con estos solventes variaran en cada una de las especies de estudio.

4.1.2.1. Extracto hexánico

En un garrafón de vidrio se colocaron 500 g de hoja molida de *Petiveria alliacea* y *Piper auritum*; 400 g de semilla de *Azadirachta indica* seca y molida, se maceraron por separado en hexano (2 x 1000 mL) durante 48 h. Posteriormente se filtró y se concentró a presión reducida en un rotavapor Büchi® para la eliminación del disolvente.

4.1.2.2. Extracto metanólico

Las muestra de hojas y semillas de las tres especies, se secaron por separado a temperatura ambiente y se colocaron en un cartucho de papel filtro, para ser

procesado en un sistema soxhlet con metanol por 48 h. Al término del tiempo requerido, el filtrado se concentró a presión reducida en un rotavapor Büchi® para la eliminación del disolvente y obtener el extracto metanólico.

4.1.3. Análisis fitoquímico

Con la finalidad de identificar la naturaleza de los metabolitos secundarios presentes en cada extracto, se realizaron cromatografías en capa fina de los extractos de diferente polaridad (hexánico y metanólico) de cada una de las especies vegetales a evaluar: *Piper auritum* (Hoja Santa), *Petiveria alliacea* (Hierba del Zorrillo) y *Azadirachta indica* (Neem). Cada extracto se fraccionó para realizar la identificación preliminar de alcaloides, flavonoides y terpenoides.

4.1.3.1. Identificación de alcaloides

Se aplicaron los extractos metanólico y hexánico disueltos en el mismo solvente, con un capilar sobre la placa de cromatografía en capa fina de gel de sílice 60 Merck. Como eluyente se utilizó metanol: diclorometano (5:5). La placa se reveló con la aspersion del reactivo de Dragendorff (solución a: 0.85 g nitrato básico de bismuto en 10 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua, solución b: 8 g de yoduro de potasio en 30 mL agua. Solución stock: solución a y b se mezclan 1:1). La aparición de manchas color marrón indicó la presencia de alcaloides.

4.1.3.2. Identificación de flavonoides

Se aplicaron los extractos metanólico y hexánico disueltos en el mismo solvente, con un capilar sobre la placa de cromatografía en capa fina de gel de sílice 60 Merck. Como eluyente se empleó butanol: ácido acético: agua (4:1:5). Los reveladores empleados para la placa fueron, 10 mL de 2-Aminoethildifenilborinato (NP) y 8 mL de Polietilenglicol 4000 (PEG) para observar las manchas con la lámpara UV.

4.1.3.3. Identificación de terpenoides

Se aplicaron los extractos metanólico y hexánico disueltos en el mismo solvente, con un capilar sobre la placa de cromatografía en capa fina de gel de sílice 60 Merck. Como eluyente se empleó tolueno: acetato de etilo (93:7). La placa se reveló asperjando 10 mL de vainillina 1% en etanol y ácido sulfúrico 10% en etanol; se calentó la placa por 5 minutos a 110 °C. Se observa la aparición repentina y fugaz del color rosa. La aparición de colores rojos, rosa, púrpura o azul se considera prueba positiva.

4.1.4. Larvas de gusano soldado (*Spodoptera exigua*)

La población de larvas de gusano soldado (*Spodoptera exigua*), 4to instar utilizadas para las pruebas antialimentarias y de toxicidad en laboratorio y campo, fueron criadas y donadas por el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), Campus Estado de México; bajo la supervisión del Dr. George Mahuku.

4.1.5. Diseño experimental

Se prepararon concentraciones 1, 5 y 10% a partir de los extractos hexánico y metanólico de las tres especies vegetales para las pruebas antialimentarias y de toxicidad en laboratorio (Cuadro 2).

Los tratamientos fueron asignados en cajas petri como unidades experimentales (UE) en un Diseño Completamente al Azar, etiquetándolas al momento de su asignación.

Se realizaron cinco repeticiones por tratamiento (concentración 1, 5 y 10%) incluyendo el control. Las unidades experimentales fueron tratadas de manera similar con cada extracto y todos los tratamientos se realizaron de forma simultánea (hexánico y metanólico).

Cuadro 2. Diseño de tratamientos para pruebas antialimentarias y toxicidad en laboratorio

Especie	Concentración	Tratamientos	
		Hexánico	Metanólico
<i>Petiveria alliacea</i> Hierba del Zorrillo	1%	ZH1	ZM1
	5%	ZH2	ZM2
	10%	ZH3	ZM3
<i>Piper auritum</i> Hoja Santa	1%	SH1	SM1
	5%	SH2	SM2
	10%	SH3	SM3
<i>Azadirachta indica</i> Neem	1%	NH1	NM1
	5%	NH2	NM2
	10%	NH3	NM3

4.1.6. Pruebas antialimentaria

El bioensayo in vitro se realizó en el laboratorio de Investigación de Bioquímica Vegetal de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

Se prepararon las concentraciones 1, 5 y 10% de los extractos hexánico y metanólico de las tres especies (*P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica*) en agua destilada mas agente tenso activó Tween 20[®] al 0.1 % v/v para lograr la solubilidad del mismo.

El bioensayo se llevó a cabo mediante los siguientes pasos:

1. Se colocaron dos discos foliares de lechuga de 3 cm de diámetro en cada unidad experimental (caja petri).

-
2. Con una micropipeta el disco 1 fue rociado por ambos lados (haz y envés) con 600 μ L de extracto (Disco tratado) y el disco 2 con igual cantidad de agua (Cv = Variante de control) dejándose secar por 30 min, el exceso se retiro con papel secante.
 3. Cada disco fue pesado en una balanza analítica Ohaus y se colocaron en una caja petri de cristal de 9 cm diámetro x 1.5 cm altura, con una base de papel filtro húmedo con agua destilada para evitar la desecación del material vegetal (Figura 6).



Figura 6. Peso de discos foliares y vista en cajas petri.

4. Las larvas de gusano soldado (*S. exigua*) se privaron de alimento durante 5 h para asegurar la efectividad de la prueba antialimentaria (Rossetti *et al.*, 2008), se obtuvo el peso inicial de cada larva en una balanza analítica Ohaus y fueron colocadas sobre los discos foliares. Las cajas petri fueron cubiertas por una malla (Figura 7).
5. Después de 72 h a una temperatura 24 °C y HR 63 %, se retiraron las larvas y los discos foliares, ambos se pesaron para obtener su peso final.



Figura 7. Peso de larvas y vista en cajas petri.

6. Por cada extracto y concentración se calculó:

1. **Índice de disuasión alimentaria (FDI)**, calculado a través de la fórmula:

$$(FDI) = 100 [(C-T) / (C+T)]$$

Donde:

T = Peso de disco tratado con extracto

C = Peso de disco sin extracto

Este índice evalúa el potencial de una sustancia para inducir la detención de alimentación al ser degustada por la larva, si continua la alimentación es una fuente alternativa de alimento (Zapata *et al.*, 2009).

2. **Índice de supresión de la alimentación (FSI)**, calculado a través de la fórmula:

$$(FSI) = 100 [(Cv-(C+T) / Cv]$$

Donde:

T = Peso de Disco tratado con extracto

CV = Variable control (peso de disco sin extracto)

C = Peso de disco del tratamiento control

Este índice evalúa el potencial de una sustancia para inhibir el deseo de alimentación en la larva, aun cuando existe fuente de alimento (Zapata *et al.*, 2009)

4.1.7. Evaluación de toxicidad *in vitro*

Las concentraciones 1, 5 y 10% de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica* de los extractos hexánicos y metanólicos se prepararon en agua destilada mas agente tensoactivo Tween 20[®] a 0.1 % v/v para lograr la solubilidad del extracto.

1. Se colocaron tres larvas de gusano soldado (*Spodoptera exigua*) en una caja Petri de cristal de 9 cm diámetro X 1.5 cm altura, con tres discos foliares de lechuga con un diámetro de 3 cm sin extracto para la adaptación de las larvas durante 24 h.
2. Tres nuevos discos foliares de lechuga con 3 cm de diámetro fueron rociados cada uno por ambos lados (haz y envés) con 800 µL de cada extracto por concentración (1, 5 y 10%).
3. Se dejaron secar por 30 min y se retiró el exceso con papel secante, cada disco fue pesado en una balanza analítica Ohaus y se colocaron en la caja Petri (UE), con una base de papel filtro húmedo con agua destilada para evitar la desecación del material vegetal.
4. Después del tiempo de adaptación cada una de las larvas de gusano soldado (*S. exigua*) fue pesada en una balanza analítica Ohaus y fueron colocadas sobre los discos foliares con extracto. Las cajas petri fueron cubiertas por una malla.

Se realizaron los conteos cada 24 h por un lapso de 5 días y se cuantifico el número de larvas vivas y muertas en cada unidad experimental. En este periodo la temperatura ambiente oscilo entre 12 a 25 °C y la HR de 55 a 65 %.

4.2.Fase de campo

4.2.1. Cultivo de tomate uva var. Santa

El establecimiento del cultivo de tomate uva var. Santa (*Solanum lycopersicum*) se llevó a cabo bajo sistema de producción orgánico a campo abierto en el Rancho Los Hoyos ubicado en el km. 91 de la carretera internacional Obregón-Guaymas, 7.6 km al norte, Municipio de Empalme, Sonora., propiedad de la empresa Ag Mart Produce S de RL de CV.

La zona de cultivo cuenta con un clima seco muy cálido del tipo BW (h') w (e), con una temperatura media máxima mensual de 34 °C en los meses de julio y agosto, y una temperatura media mínima mensual de 18 °C en los meses de enero y febrero.

Los tipos de suelos identificados son: litosol, regosol y vermosol, diseminados en todo el territorio del municipio. Los suelos del municipio son aptos para pastizales y la agricultura está restringida a las zonas de riego, obteniendo altos rendimientos en hortalizas, granos y vid.

El cultivo de tomate uva orgánico del Rancho Los Hoyos, se encuentra certificado bajo la modalidad de 100 % orgánico, bajo los lineamientos del Programa Nacional Orgánico (NOP), emitida esta certificación por Quality Assurance International (QAI), desde el año 2002 hasta la fecha (Grape Tomatoe Santa. www.santasweets.com Consulta: 9 julio 2010).

4.2.2. Manejo del cultivo

La siembra se realizó a mediados del mes de julio del 2010, presentando temperaturas mínimas de 16 °C y máximas de 40 °C; el sustrato fue Peat Moss marca TBK y vermiculita, realizando una mezcla de 2:1. Una vez sembrada la semilla en las charolas se le dio un riego pesado de agua y se estibarón en una tarima de madera y fueron cubiertas con una película plástica negra para iniciar la

germinación, estas se colocaron en un cuarto cerrado y oscuro durante 4 días para iniciar la germinación.

Al cuarto día las charolas se sacaron del cuarto oscuro, fueron colocadas en mesas del invernadero correspondiente del área orgánica, se aplicó riego por aspersión durante 2 horas únicamente agua. El quinto día, se evaluó la germinación que oscilaba entre 30 y 35%. El sexto día, se aplicó un riego pesado durante una hora y media. El séptimo día, se evaluó la germinación reportando un 60-65%. El noveno día, evaluación de germinación 90-95%. El onceavo día inició la fertilización y fumigación a la plántula. Los días 13 al 32 se realizaron aplicaciones de riego y fumigación (fungicida Sonata[®] i.a. *Bacillus pumilus*).

El día 33 se aplica trichoderma. Para el día 35 las plántulas estaban listas para salir del invernadero y ser trasplantada en campo (Figura 8).



Figura 8. Siembra en invernadero.

Los surcos de cultivo en campo estuvieron acolchados y se irrigó por medio de sistema por goteo; en cada surco se sembraron las plantas de tomate uva con una separación de 55 cm y la distancia entre surcos de 1.2 m, con una densidad de 4 plantas/m².

4.2.3. Elección, infestación y tratamientos en el cultivo

La selección de plantas (unidades experimentales: UE) de tomate uva var. Santa (Figura 9), fue cuatro semanas después del trasplante, en la etapa fenológica de ramificación, la altura de las plantas fue de 45 a 50 cm.



Figura 9. Elección de plantas.

Se infestaron 30 plantas (UE) elegidas aleatoriamente de acuerdo a los principios de un Diseño Completamente al Azar con tres repeticiones por tratamiento, siendo el control agua + Tween 20[®] al 0.1 % v/v.

Se colocaron 15 larvas de gusano soldado (*Spodoptera exigua* 4^o instar) por planta, donde permanecieron por 24 h para su adaptación. Estas se aislaron mediante jaulas entomológicas elaboradas con tela de organza blanca de 70 cm de largo por 50 cm de diámetro, las cuáles fueron sujetas por las estacas del tutoreo y el amarre de la planta (Figura 10).



Figura 10. Aislamiento de plantas.

Los extractos metanólicos se prepararon a concentraciones 5, 10 y 15 % en agua normal con un pH 7.0 con agente tensoactivo Tween 20[®] al 0.1 % v/v para lograr la solubilidad.

La aspersion de los extractos metanólicos de *Petiveria alliacea* (Hoja del Zorrillo), *Piper auritum* (Hoja Santa) y *Azadirachta indica* (Neem), se realizó con un atomizador manual 24 h después de la infestación (tiempo de adaptación), a una dosis de 35 mL por planta (dosis previamente medida para evitar el derrame de la solución a la hora de la aplicación), efectuándose tres aplicaciones cada 24 h para asegurar el efecto de los extractos.

Las aplicaciones se realizaron en lo más temprano posible para asegurar que las larvas no estuvieran estresadas por la temperatura y la HR. La primera aplicación fue a las 7:00 am, segunda aplicación 7:30 am y la tercera aplicación 8:00 am, con una temperatura 21 °C \pm 2 y HR 35% \pm 2, los conteos se realizaron tres horas después de la aplicación para cuantificar el descenso de la población.

Las variables a evaluar fueron: número de larvas vivas y muertas.

4.3. Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza (ANOVA) y análisis de comparación de medias LSD Fisher ($\alpha=0.05$), para detectar el o los mejores tratamientos (concentraciones), con el programa system analysis statistical (SAS) versión 9.0. El Análisis estadístico Probit (Finney, 1971), permitió calcular la concentración letal media (CL₅₀).

4.3.1. Variables respuesta

En las pruebas antialimentarias las variables fueron: peso inicial de larva, peso final de larva, peso inicial de disco y peso final de disco

VARIABLES medidas en pruebas de toxicidad en laboratorio fueron: número de larvas de gusano soldado (*S. exigua*) vivas y muertas, para obtener el porcentaje mortalidad por tratamiento y extracto de las tres plantas de estudio.

VARIABLES medidas en campo: número de larvas de gusano soldado (*S. exigua*) vivas y por diferencia, con respecto al total de individuos contados en cada unidad experimental antes de la aplicación de los tratamientos, el número de larvas muertas, para obtener el porcentaje de descenso poblacional (porcentaje de mortalidad) por cada unidad experimental.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Identificación fitoquímica de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica*.

Los extractos hexánico y metanólico que se evaluaron en laboratorio y campo fueron analizados por cromatografía en capa fina de gel de sílice 60 Merck con la finalidad de identificar la presencia de alcaloides, flavonoides y terpenoides. El Cuadro 3 muestra los rendimientos obtenidos en la extracción con hexano y metanol de las tres especies en 100 g de muestra.

Cuadro 3. Rendimiento de extractos hexánico y metanólico en tres especies vegetales.

Especie	Peso de muestra (g)	Extracto	
		Hexánico (g)	Metanólico (g)
<i>Azadirachta indica</i> (s)	100	53.17	19.65
<i>Piper auritum</i> (h)	100	0.94	4.14
<i>Petiveria alliacea</i> (h)	100	2	23.44

h=hojas; s=semillas

Vivanco *et al.* (2005) menciona que los compuestos de las plantas pueden ejercer actividades desde insecticidas, antialimentarias y repelentes, por lo que es importante identificar los compuestos para realizar evaluaciones más precisas.

5.1.1. Alcaloides

La Figura 11, muestra la cromatoplaqueta para la identificación de alcaloides en el extracto hexánico (A) y el extracto metanólico (B), la aspersion del reactivo de Dragendorff, permitió detectar la presencia de alcaloides únicamente en el extracto metanólico de las especies *P. alliacea* y *P. auritum* por la coloración marrón que adquirieron las manchas. Al respecto, (Olivero-Verbel *et al.*, 2009; Bezerra *et al.*,

2005) describen la presencia de alcaloides en *P. alliacea*, así como en *P. auritum*. Wink, (1993a), menciona las propiedades insecticidas que presentan algunos alcaloides, lo cual explica la mediana toxicidad que presentó el extracto metanólico de ambas especies.

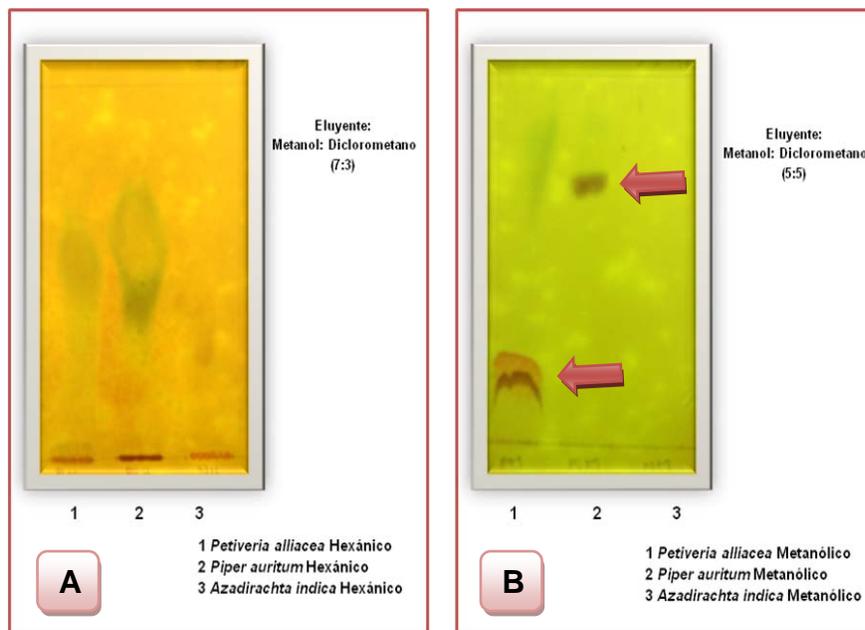


Figura 11. Cromatografía de alcaloides con extractos hexánico (A) y metanólico (B) de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica*.

5.1.2. Flavonoides

Al evaluar la presencia de flavonoides en las cromatoplasmas, donde se aplicó aproximadamente 1 μ L por separado del extracto hexánico y metanólico de las tres especies, la Figura 12 muestra que en la cromatoplasma A (extracto hexánico) no se encuentran flavonoides, sin embargo en la cromatoplasma B (extracto metanólico), la presencia de fluorescencia verde (Wagner y Bladt, 1996) indica presencia positiva en los extractos de *P. alliacea* y *P. auritum*.

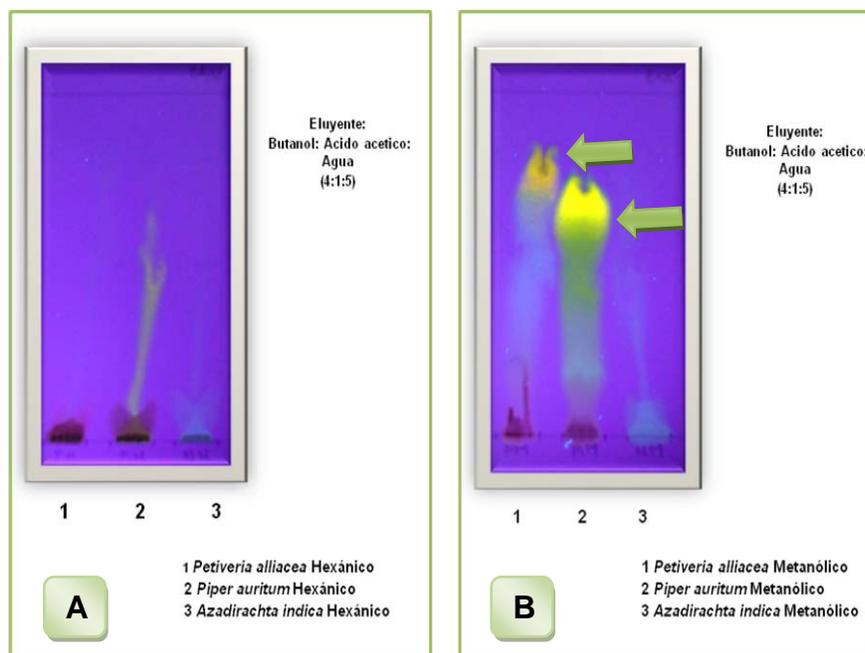


Figura 12. Cromatografía de flavonoides con extractos hexánico (A) y metanólico (B) de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica*.

5.1.3. Terpenoides

En la Figura 13, se observa que al identificar por cromatografía en capa fina y al usar como agente cromogénico vainillina + ácido sulfúrico (Wagner y Bladt, 1996), las cromatoplacas presentaron coloraciones azul – violeta, lo cual indica la presencia de terpenoides en el extractos hexánico (A) de *P. alliacea* y *P.auritum*. En contraste únicamente se identifican terpenoides en el extracto metanólico (B) de *A. indica* (Neem), lo cual es congruente, debido a que la literatura señala que el principio activo más potente de Neem es un terpenoide denominado azadiractina.

El efecto sinérgico que existe en *P. auritum* en combinación de terpenoides, alcaloides y flavonoides, revela una efectividad tóxica después de *A. indica*; lo cual fue apreciado en las pruebas antialimentarias y toxicidad, ya que esta fue la segunda especie más efectiva.

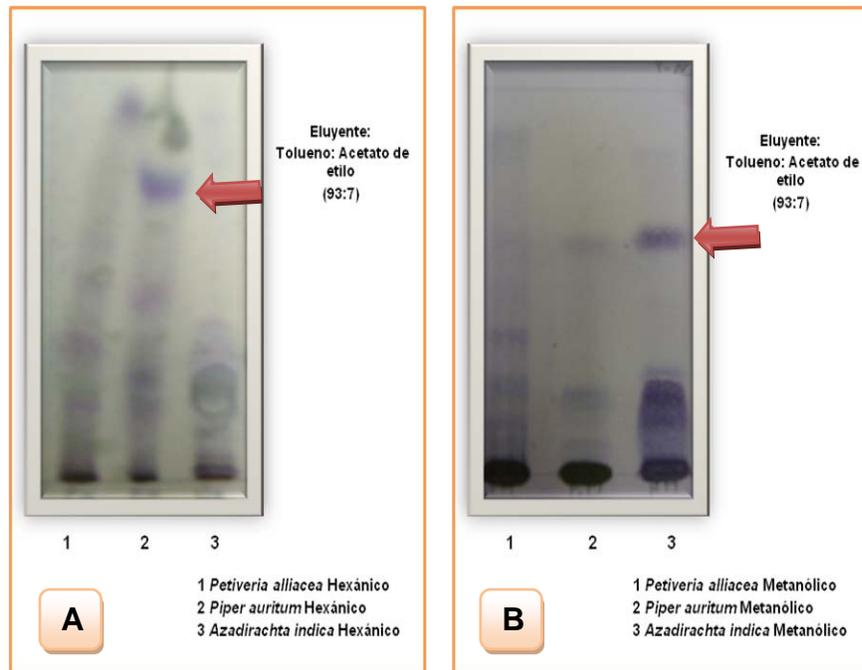


Figura 13. Cromatografía de terpenoides con extractos hexánico (A) y metanólico (B) de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica*.

El extracto metanólico de *A. indica*, presentó la mayor toxicidad en las pruebas realizadas en laboratorio y campo. Diversas investigaciones se han realizado con terpenos como la azadiractina que es el compuesto que se extrae de *A. indica* y presenta efectos antialimentarios y tóxicos en diferentes familias de insectos plaga del orden lepidópteros, ortópteros, etc. (González *et al.*, 2010).

El Cuadro 4 muestra un resumen de los metabolitos detectados cualitativamente en las tres especies, los resultados observados en los extractos de diferente polaridad coinciden con lo reportado en la literatura. Ya se argumentó en párrafos anteriores que la toxicidad de Neem, se debe a la presencia de un limonoide (triterpenoide), que por su polaridad se detectó en el extracto de mayor naturaleza hidrofílica. En relación a *P. auritum*, se identificó la presencia de flavonoides y alcaloides en el extracto de polaridad similar a los metabolitos y en el extracto hexánico se detectó la presencia de terpenoides, lo cual explica la intermedia toxicidad, debido a que por tratarse una de una planta aromática, éstos pudieran estar presentes como aceites esenciales en el extracto de menor polaridad

(Scott *et al.*, 2008). La baja toxicidad encontrada en los extractos hexánicos y metanólico de *P. alliacea* posiblemente se debe a la presencia de metabolitos en baja concentración, como se muestra en la placa cromatográfica y quizás a la naturaleza química. La actividad biológica descrita en esa especie se debe principalmente a compuestos derivados de azufre (Castañeda *et al.*, 2007), ensayo que no se realizó en el laboratorio para confirmar su presencia en los extractos evaluados.

Cuadro 4. Análisis fitoquímico de extractos hexánicos (H) y metanólicos (M) de tres especies vegetales

Especie	Metabolitos identificados en el presente estudio						Referencias
	Flavonoides		Alcaloides		Terpenoides		
	H	M	H	M	H	M	
<i>Azadirachta indica</i> (s)	nd	nd	nd	nd	nd	++	Terpenoides (Paverla <i>et al.</i> , 2009; Reed y Majumdar., 1998; Isman, 1997).
<i>Piper auritum</i> (h)	nd	++	nd	++	++	nd	Terpenoides (Olivero-Verbel <i>et al.</i> , 2009; Castañeda <i>et al.</i> , 2007). Flavonoides (Olivero-Verbel <i>et al.</i> , 2009). Alcaloides (Olivero-Verbel <i>et al.</i> , 2009).
<i>Petiveria alliacea</i> (h)	nd	+	nd	++	nd	nd	Flavonoides (Bezerra <i>et al.</i> , 2005). Alcaloides (Bezerra <i>et al.</i> , 2005).

h: hojas; **s**: semillas; **H**: extracto hexánico; **M**: extracto metanólico; **nd**: no detectado; **(+)**: baja intensidad; **(++)**: mayor intensidad

En resumen, son marcadas las diferencias que existen entre las variaciones de toxicidad por especie y tipo de extracto; además se observó que existe una respuesta diferencial del insecto receptor a la diferente polaridad y composición química de los extractos hexánico y metanólicos de *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliacea*.

5.2. Pruebas antialimentarias en *Spodoptera exigua*

Los efectos antialimentarios observados en *Spodoptera exigua* 4° instar, mediante la aplicación de extractos hexánicos y metanólicos de *Petiveria alliacea* (Hierba del Zorrillo), *Piper auritum* (Hoja Santa) y *Azadirachta indica* (Neem), pueden manifestar el cese de alimento en las larvas y ser evaluados por medio del índice de disuasión alimentaria (FDI) e índice de supresión alimentaria (FSI) y ser reflejado en la diferencia de peso en la larva.

5.2.1. Índice de disuasión alimentaria (FDI)

El análisis estadístico (ANOVA) del extracto hexánico ($\hat{\alpha} = 0.608$) no mostró diferencias estadísticas significativas en el índice de disuasión alimentaria (FDI) entre los tratamientos aplicados con las tres especies de estudio (Cuadro 5).

Cuadro 5. Índice de disuasión alimentaria (FDI), índice de supresión alimentaria (FSI), diferencia peso de larvas (DPL) de *S. exigua* y diferencia peso de discos foliares (DPD) con extractos hexánicos y metanólicos.

Especie	Concent %	FDI		FSI		DPL		DPD	
		Hex	MeOH	Hex	MeOH	Hex	MeOH	Hex	MeOH
<i>Petiveria alliacea</i> Hierba del Zorrillo	1	5.69 a	5.73ab	95.24 ^a	77.0 bc	0.024a	0.035a	0.432b	0.532abc
	5	8.26 a	6.45ab	83.37ab	59.88c	0.022ab	0.016b	0.509ab	0.501c
	10	3.41 a	5.17b	83.19ab	75.58bc	0.023a	0.016b	0.537a	0.599a
<i>Piper auritum</i> Hoja Santa	1	3.98 a	5.49ab	88.50 ^a	76.54bc	0.013cd	0.024ab	0.504ab	0.581ab
	5	4.32 a	5.76ab	87.51 ^a	82.52ab	0.014cd	0.021ab	0.499ab	0.533abc
	10	4.58 a	7.41ab	80.22ab	75.55bc	0.014cd	0.0201 b	0.509ab	0.571ab
<i>Azadirachta indica</i> Neem	1	6.67 a	4.39b	70.62bc	77.83bc	0.012d	0.021ab	0.459ab	0.558abc
	5	7.68 a	9.75ab	64.37c	97.18a	0.015cd	0.023ab	0.474ab	0.575ab
	10	6.91 a	10.88a	64.14c	74.23bc	0.017bc	0.019b	0.493 ab	0.592a
Control	-	-	-	-	0.023ab	0.022ab	0.543a	0.523bc	
DMS	5.60	5.42	15.31	19.23	0.005	0.008	0.099	0.066	

FDI: Índice de disuasión alimentaria; FSI: Índice de supresión alimentaria; DPL: Diferencia peso de Larva; DPD: Diferencia peso de disco; Hex: Extracto hexánico; MeOH: Extracto metanólico. Medias con igual letra por columnas son estadísticamente iguales ($\alpha = 0.05$)

El cuadro 5 muestra las variables que se evaluaron en las pruebas antialimentarias y poder apreciar las diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de las tres especies de estudio.

Al no mostrar ningún efecto de disuasión importante en los extractos hexánicos aplicados sobre larvas de *S. exigua* (Figura 14), se apreció que las larvas optaron por el alimento aún cuando las diferencias entre las concentraciones no fueron significativas; se aprecia que la concentración de los extractos de las tres especies incremento el FDI siendo la concentración media 5% (ZH2) de *P. alliacea* la que mayor atracción provocó. Pavela *et al.* (2008) mencionan que aunque no se aprecie un efecto disuasivo si reduce el crecimiento larvar; por lo que esto es similar a lo que ocurrió con los extractos hexánicos, no hubo diferencias estadísticas significativas en el FDI entre los tratamientos de las tres especies, pero si observó disminución de peso importante en los discos de lechuga asperjados con *P. auritum* y *A. indica*.

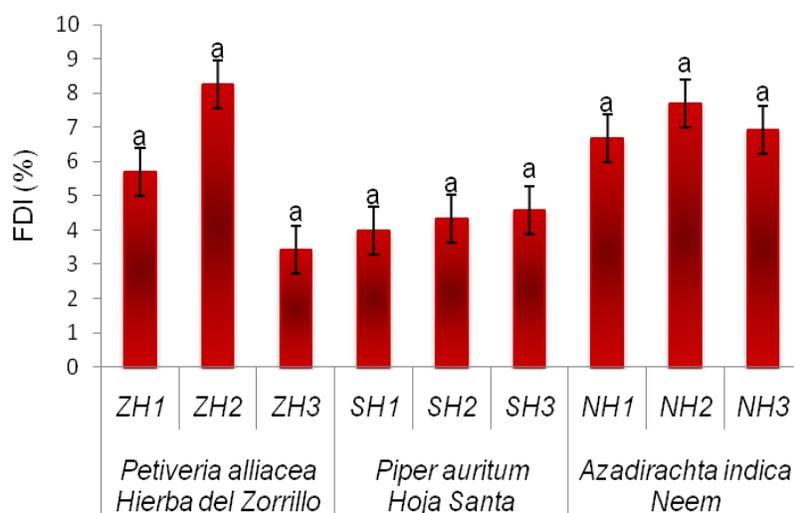


Figura 14. Índice de Disuasión Alimentaria (FDI), en larvas de *S. exigua* con extractos hexánicos. * Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **H**: Extracto hexánico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

El comportamiento del índice de disuación alimentaria de los extractos metanólicos de las tres especies ($\hat{\alpha}=0.265$) mostro diferencias estadísticas significativas entre los efectos de los tratamientos con las tres especies (Cuadro 5).

El mayor efecto disuasivo de la alimentacion en larvas de *S. exigua* se observó en la concentración alta (10%) del extracto de Neem, que es estadísticamente superior a los tratamientos ZM3 y NM1. No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos restantes (Figura 15). De acuerdo con la definición de disuasión alimentaria (Zapata *et al.*, 2009), los resultados presentados en el Cuadro 5, permiten inferir que la larva continuó espontaneamente el consumo de los discos de lechuga tratados con los extractos metanólicos a pesar de haberlos degustado previamente.

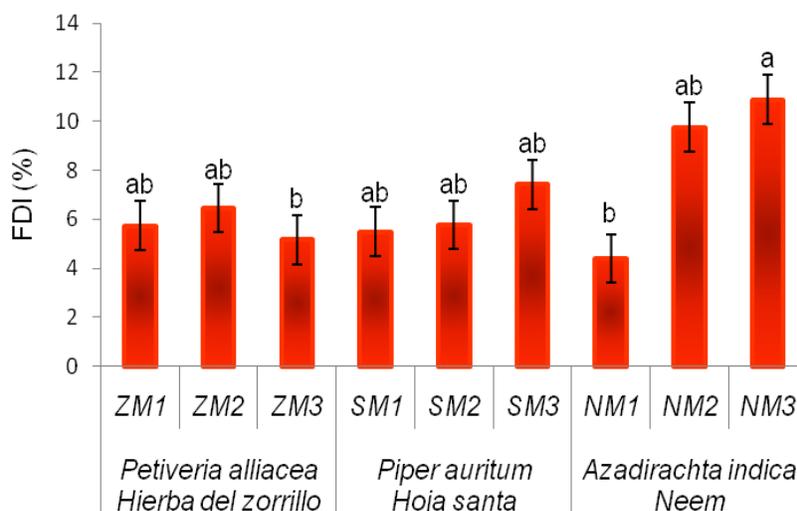


Figura 15. Índice de Disuasión Alimentaria (FDI), en larvas de *S. exigua* con extractos metanólicos. *Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha=0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

El comportamiento del extracto metanólico de las tres especies en el FDI muestra que su composición es diferente al hexánico, lo cual es aceptable, debido a que se ha descrito la presencia del limonoide azadiractina como el principal

ingrediente insecticida de la planta (Pavela *et al.*, 2009). Se puede asumir que la larva al probar el extracto con diferente composición al del extracto hexánico redujo significativamente la ingesta alimentaria y el efecto disuasorio incrementó.

Pavela *et al.* (2008) evaluaron el índice de disuasión alimentaria con extractos metanólicos de *Reynoutria* spp en larvas de *Spodoptera littoralis*, por lo que no apreciaron un efecto de disuasión importante ya que la concentración de los extractos estimuló la ingesta de alimento. La mayor atracción hacia el alimento fue 24.12 % para la dosis más elevada (7.5 mg/g^{-1}), por lo que los autores concluyen que hubo una relación directa entre las dosis de los extractos evaluados y la disuasión alimentaria; la misma tendencia se observó en los tratamientos de *P. auritum* y *A. indica* (extracto metanólico) dando como resultado que al aumentar la concentración del extracto se tornó menos atractiva como alimento para la larva, en contraste el efecto de disuasión fue estadísticamente nulo en el extracto hexánico, aunque las diferencias de disuasión alimentaria que se observan solo fueron a nivel numérico.

5.2.2. Índice de supresión alimentaria (FSI)

El mayor efecto de supresión alimentaria se observó en los extractos hexánicos de *P. alliacea* y *P. auritum* en comparación con *A. indica*. El Cuadro 5 y la Figura 16 muestran las diferencias significativas del índice de supresión alimentaria (FSI) entre los tratamientos ($\hat{\alpha} = 0.0014$).

En las tres concentraciones (1, 5 y 10 %) del extracto hexánico de Neem mostraron el menor efecto con respecto al índice de supresión alimentaria en comparación al resto de los tratamientos de las otras dos especies. Esto se puede explicar debido a que *P. auritum* y *P. alliacea* presentan compuestos aromáticos que pueden suprimir el deseo de alimentación en larvas de *S. exigua* y provocar mayor supresión alimentaria. *P. alliacea* presenta compuestos de azufre, polifenoles y alcaloides (Burow y Wittstock, 2008), los cuales inducen efectos antialimentarios y mecanismos de defensa. Estos factores que pueden provocar la

supresión de alimento en las larvas que dejaron de consumir los discos de lechuga asperjados con este extracto y acentuar el efecto, que fue notorio en su concentración más baja (1%). Castañeda *et al.* (2007) señalan la presencia de safrol y miristicina que son algunas de las sustancias responsables del aroma en *P. auritum* y pueden actuar como supresores en la ingesta alimentaria en insectos plaga.

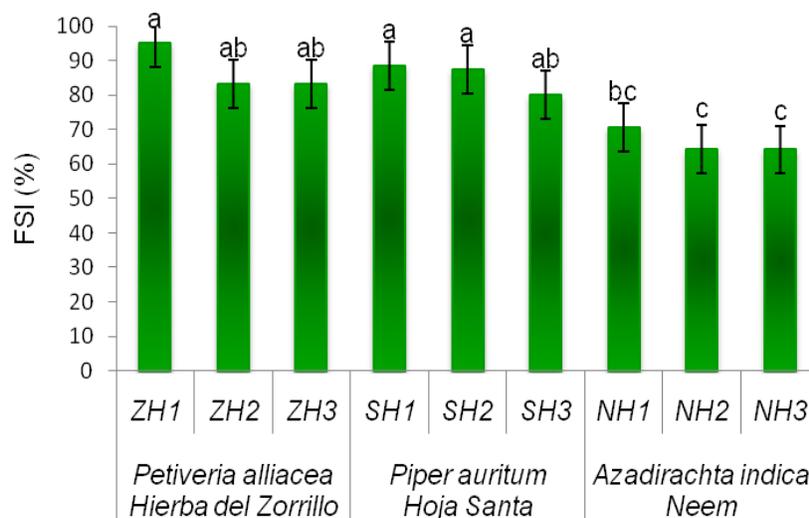


Figura 16. Índice de Supresión Alimentaria (FSI), en larvas de *S. exigua* con extractos hexánicos. * Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **H**: Extracto hexánico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

El comportamiento de los extractos metanólicos ($\alpha = 0.067$) al momento de evaluar la supresión alimentaria en larvas de *S. exigua* (Cuadro 5) difiere al efecto observado con los extractos hexánicos de las tres especies. Entre los extractos metanólicos se observaron diferencias estadísticas significativas en la concentración media de *P. auritum* (SM2), *P. alliacea* (ZM2) y *A. indica* (NM2), el cual mostro el mayor efecto de supresión (97.18%) que los demás tratamientos (Figura 17). Kurose y Yatagai (2005), mencionan que adicionalmente los componentes que predominan en *A. indica* son ácidos grasos, ésteres y terpenoides en un extracto mas polar, por lo que la presencia de estos pueden

explicar el efecto para suprimir la alimentación y el crecimiento en insectos del orden Lepidóptera.

Los tratamientos (ZM3, SM3 y NM3) que presentan la mayor concentración (10%) de las tres especies no presentaron diferencias estadísticas significativas por lo que el efecto de supresión alimentaria fue similar.

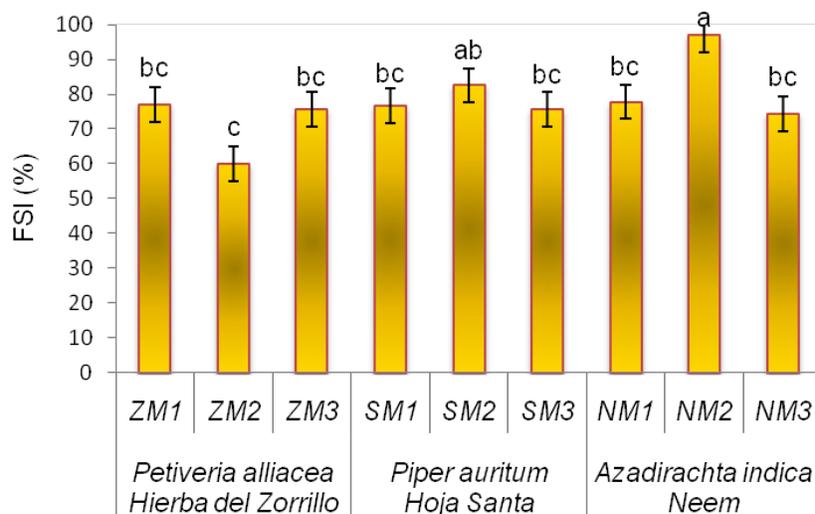


Figura 17. Índice de Supresión Alimentaria (FSI), en larvas de *S. exigua* con extractos metanólicos. *Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

El efecto de supresión alimentaria en larvas de *S. exigua* con extractos hexánicos (Figura 16) y metanólicos (Figura 17), presentó respuestas diferentes en los tratamientos a medida que fue aumentando la concentración, por lo tanto, la larva consume diferente proporción del disco foliar cuando la concentración incrementa, este resultado puede ser indicativo de la actividad química que constituye cada planta en lo que respecta a sus metabolitos presentes (Regnault-Roger, 1997).

La actividad antialimentaria registrada en las dos pruebas (con posibilidad de elección de alimento) puede una de las causas del peso final de larvas de *S. exigua*, por lo que la composición química que presentan los extractos

hexánico y metanólico de *P. alliaceae*, *P. auritum* y *A. indica* se refleja notoriamente en la reducción o incremento del consumo de alimento, lo que afecta directamente al crecimiento y la supervivencia de las larvas (Rossetti *et al.*, 2008).

5.2.3. Diferencia de peso en larvas de *S. exigua* 4° instar

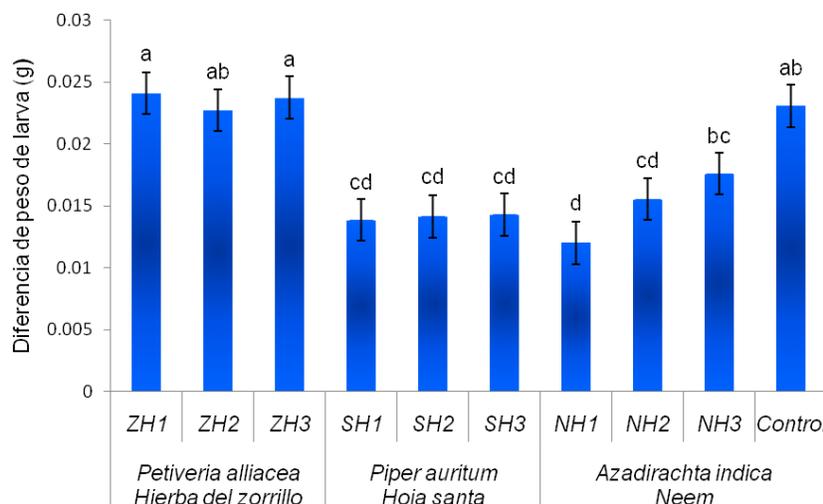


Figura 18. Diferencia de peso de larva (g) de *Spodoptera exigua* 4° instar con extractos hexánico. *Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **H**: Extracto hexánico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

La diferencia de peso de la larva en los tratamientos evaluados en las pruebas antialimentarias muestran que hubo diferencias estadísticas significativas ($\hat{\alpha} = 0.0003$). Todos los tratamientos de *P. alliaceae* (ZH1, ZH2 y ZH3) y la concentración más alta (NH3) *A. indica* son estadísticamente iguales al control mostrando los mayores valores en la diferencia de peso de larva. Por otro lado, todos los tratamientos de *P. auritum* (SH1, SH2 y SH3) al igual que la concentración más baja (NH1) de *A. indica* son estadísticamente iguales mostrando los valores menores en relación a la diferencia de peso de la larva. Sin embargo, es importante destacar que en las tres concentraciones de *A. indica*

hubo un ascenso gradual del peso de la larva conforme aumento la concentración del extracto (Figura 18).

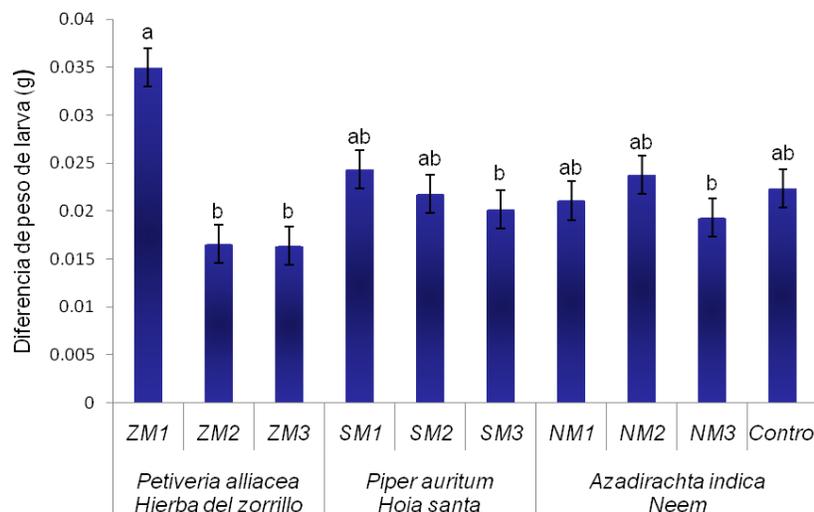


Figura 19. Diferencia de peso de larva (g) de *Spodoptera exigua* 4° instar con extractos metanólicos. *Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

Con respecto al extracto metanólico (Cuadro 5) los tratamientos presentan diferencias estadísticas significativas ($\hat{\alpha} = 0.0001$). Todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales al control, excepto el tratamiento ZM1 de *P. alliacea* el cual mostro el valor mayor en la diferencia de peso de larva, en el cual se observo que hubo un aumento de peso en la larva, en contraste a las concentraciones 5 y 10% (ZM2 y ZM3), se observó el efecto opuesto y el efecto antialimentario fue notorio (Figura 19).

5.2.4. Diferencia de peso en discos foliares con extractos hexánicos y metanólico

La aplicación de extractos hexánicos mostraron que la diferencia en el peso de los discos foliares presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de las tres especies con respecto al control (Cuadro 5). Todos los

tratamientos son estadísticamente iguales al control excepto el tratamiento ZH1, el cual muestra el valor mas bajo en la diferencia de peso del disco (Figura 20).

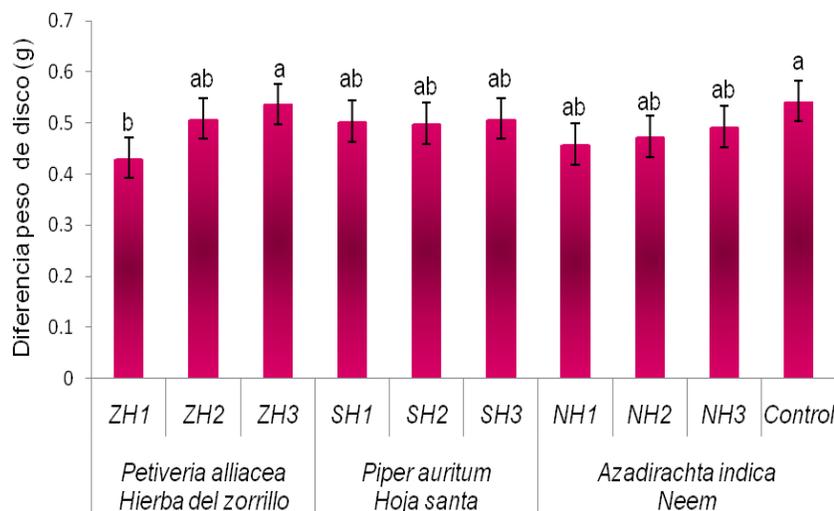


Figura 20. Diferencia de peso de discos foliares (g) con extractos hexánicos. *Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **H**: Extracto hexánico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

La diferencia de peso en los discos foliares tratados con extractos metanólicos presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de las tres especies con respecto al control (Cuadro 5). La disminución de peso fue mayor que en los tratamientos con extractos hexánicos, pudiendo ser un indicativo de que se presentó mayor efecto antialimentario con este extracto en larvas de *S. exigua*.

Los tratamientos ZM3 de *P. alliacea* y NM3 de *A. indica* son estadísticamente superiores al control, mostrando el mayor valor en la diferencia de peso del disco (Figura 21), lo que indica que las larvas consumieron una porción escasa del alimento expuesto.

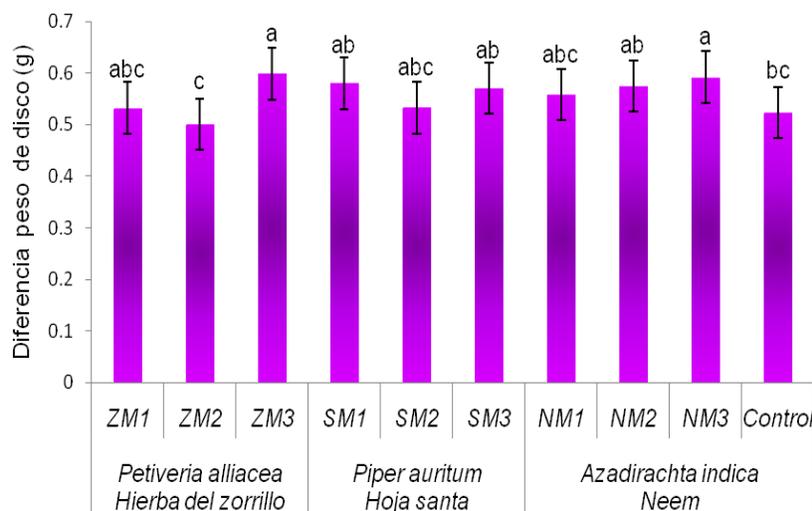


Figura 21. Diferencia de peso de discos foliares (g) con extractos metanólicos. *Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: Concentración 10%.

5.3. Pruebas de toxicidad con extractos hexánico y metanólico de *P. alliaceae*, *P. auritum* y *A. indica* sobre *Spodoptera exigua* 4° instar.

5.3.1. Toxicidad en laboratorio

El porcentaje de mortalidad en larvas de *S. exigua* 4° instar que se observó en laboratorio al ser tratadas con extractos hexánicos mostró diferencias estadísticas significativas ($\hat{\alpha} = 0.0003$) en los efectos de los tratamientos de las tres especies. El mayor efecto se manifestó en las concentraciones más altas (10%) de *A. indica* (NH3), *P. auritum* (SH3) y *P. alliaceae* (ZH3) que en el resto de los tratamientos y el control (Figura 22). Lo anterior dado que en las concentraciones menores el efecto tóxico no se manifestó de inmediato.

Las especies *P. auritum* (SH3) y *P. alliaceae* (ZH3) muestran que en la concentración más alta (10%) no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre ellas, *A. indica* (NH3), pero fue la que presentó el mayor valor

numérico en el porcentaje de mortalidad en larvas de *S. exigua* 4° instar (Cuadro 6), al respecto Mordue (2004), menciona que la azadiractina bloquea las células quimiorreceptoras que estimulan normalmente la alimentación, provocando la muerte.

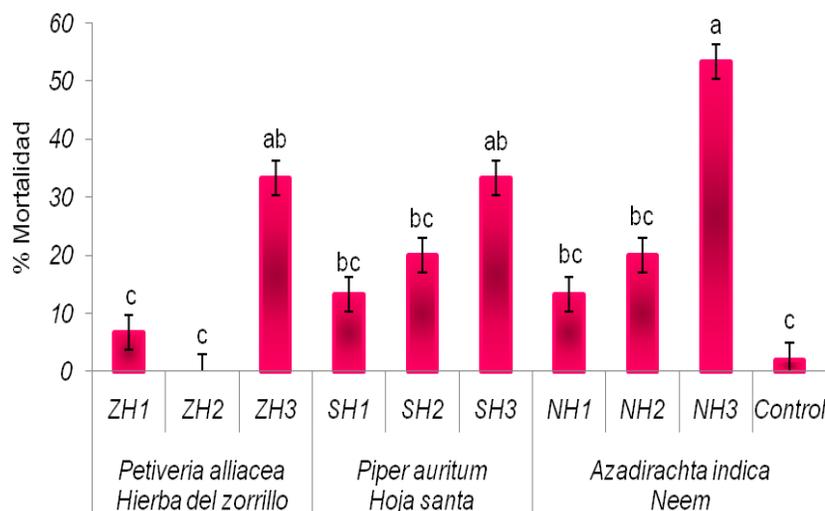


Figura 22. Mortalidad en *Spodoptera exigua* por efecto de extracto hexánico de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica* en laboratorio. * Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **H**: Extracto hexánico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

En los tratamientos evaluados con extractos metanólicos se observó diferencias estadísticas significativas ($\hat{\alpha} = 0.002$) (Cuadro 6). Se apreció un mayor efecto de mortalidad con respecto a los tratamientos a base de extractos hexánicos.

Se observó la misma tendencia en el extracto metanólico que el extracto hexánico evaluado en laboratorio, ya que la toxicidad incremento conforme al aumento de la concentración (Figura 23). Los tratamientos que presentan la concentración más alta (10%) de *A. indica* (NH3) y *P. auritum* (SM3) son estadísticamente diferentes al control, mostrando el mayor porcentaje de mortalidad que fluctúa entre 66.67 y 53.33 %. Cabe mencionar que la concentración más alta (10%) del extracto metanólico de *P. alliacea* (ZM3) estadísticamente fue similar a la concentración

media (5%) de *A. indica* (NM2), ya que esta especie contiene terpenoides que acentúa su toxicidad, por lo que ha sido estudiada en diversas ocasiones por su efecto insecticida, siendo ya de carácter comercial su formulación (Regnault-Roger *et al.*, 1997).

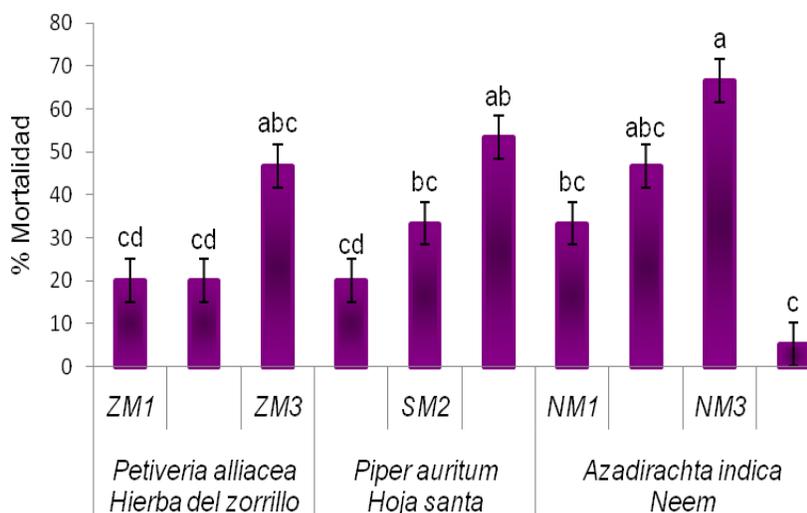


Figura 23. Mortalidad en *Spodoptera exigua* por efecto de extracto metanólico de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica* en laboratorio. * Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

En laboratorio los extractos metanólicos, mostraron mayor efectividad que los hexánicos, ya que la mortalidad en larvas de *S. exigua* 4° instar fue mayor, siendo *A. indica* la especie que presentó el mayor porcentaje, corroborando nuevamente que esta especie produce efectos múltiples tanto antialimentarios como tóxicos (Batabyal *et al.*, 2009).

Debido a la baja mortalidad que presentó el extracto hexánico (Figura 22) en larvas de *S. exigua* 4° instar, este no fue evaluado en campo.

5.3.2. Toxicidad en campo

En campo del efecto tóxico que mostro el extracto metanólico de las tres especies, presento la misma tendencia que en laboratorio, sin embargo el porcentaje de mortalidad fue menor, ya que los factores abióticos (temperatura, HR, radiación solar) provocaron que los compuestos químicos se degradaran rápidamente en comparación al laboratorio.

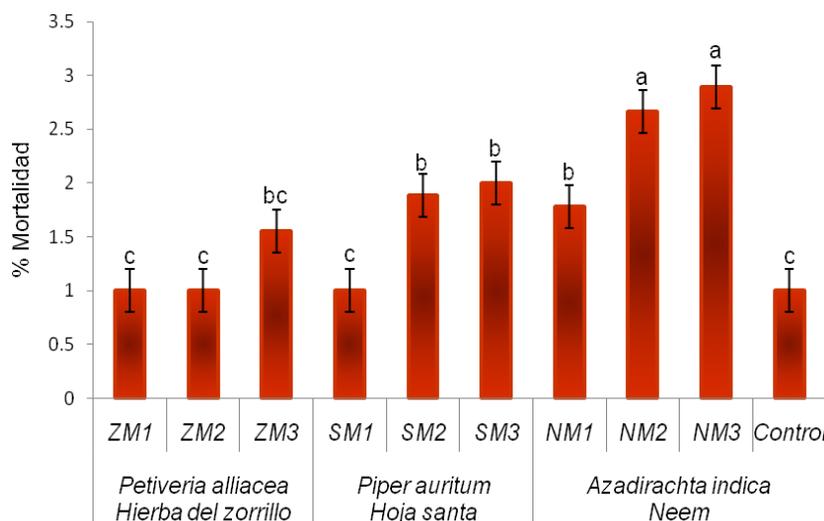


Figura 24. Mortalidad en *Spodoptera exigua* por efecto de extracto metanólico de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica* en campo. * Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 5%; **2**: concentración 10%; **3**: concentración 15%.

Se observó en los tratamientos y control evaluados en campo con extractos metanólicos presentaron diferencias estadísticas significativas ($\hat{\alpha} = 0.0001$). Es importante señalar que fue nuevamente el extracto metanólico de *A. indica* (Neem) el que ocasionó mayor porcentaje de mortalidad en larvas de *S. exigua*, segundo *P. auritum* y finalmente *P. alliacea* (Figura 24).

Al comparar el porcentaje de mortalidad del extracto metanólico (Cuadro 6) evaluado a pesar de que las concentraciones fueron mayores (5, 10 y 15%) en campo en relación al bioensayo en laboratorio (1, 5 y 10%), siempre se observó

mayor mortalidad en la evaluación *in vitro*. Esto podría deberse a que los metabolitos secundarios se caracterizan porque se degradan rápidamente por las condiciones ambientales, esto representa una ventaja para el control de insectos plagas por medio de insecticidas naturales (Vivanco *et al.*, 2005).

Regnault-Roger *et al.*, 2004, mencionan que la mortalidad del insecto plaga depende directamente de la concentración y el tiempo de exposición. Por lo tanto, si se presentan dos o más compuestos en una especie pueden aumentar el efecto de las moléculas, por lo que la toxicidad será mayor a la de un solo metabolito aislado. El efecto tóxico que se observó en las especies *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliacea* las cuales presentan terpenoides, alcaloides y flavonoides en su extracción con metanol, puede manifestar efectos en insectos plaga como inhibición de su desarrollo por medio de efectos aleloquímicos y la actividad insecticida (Rizwan *et al.*, 2009).

Cuadro 6. Mortalidad en larvas de *S. exigua* con extractos hexánicos y metanólicos en laboratorio y campo.

Especie	Laboratorio				Campo	
	Hexánico	Mortalidad* (%)	Metanólico	Mortalidad* (%)	Metanólico	Mortalidad* (%)
<i>Petiveria alliacea</i> Hierba del Zorrillo	ZH1	6.67 c	ZM1	20 cd	ZM1	1
	ZH2	0 c	ZM2	20 cd	ZM2	1
	ZH3	33.33 ab	ZM3	46.67 abc	ZM3	1.55
<i>Piper auritum</i> Hoja Santa	SH1	13.33 bc	SM1	20 cd	SM1	1
	SH2	20 bc	SM2	33.33 bc	SM2	1.88
	SH3	33.33 ab	SM3	53.33 ab	SM3	2
<i>Azadirachta indica</i> Neem	NH1	13.33 bc	NM1	33.33 bc	NM1	1.77
	NH2	20 bc	NM2	46.67 abc	NM2	2.66
	NH3	53.33 a	NM3	66.67 a	NM3	2.88
Control	.	0 c	.	0 c	.	0 c
DMS		23.33		30.42		30.42

*Tratamientos con la misma letra producen efectos que no presentan diferencias estadísticas significativas ($\alpha = 0.05$). **Z**: Hierba del Zorrillo; **S**: Hoja Santa; **N**: Neem; **H**: Extracto hexánico; **M**: Extracto metanólico; **1**: concentración 1%; **2**: concentración 5%; **3**: concentración 10%.

5.4. Concentración Letal Media (CL₅₀)

Esta variable se evaluó en las pruebas de toxicidad de laboratorio y campo. La CL₅₀, proporciona la concentración que puede matar 50 % de la población de gusano soldado (*S. exigua*, 4° instar) aplicando extractos hexánico y metanólico de *A. indica*, *P. auritum* y *P. alliaceae* en condiciones de laboratorio y extracto metanólico en campo.

El análisis de comparación de medias LSD Fisher ($\alpha = 0.05$), muestra mayor efecto tóxico (interacción planta*extracto) en el extracto metanólico ($\bar{X} = 37.77a$) en relación al hexánico ($\bar{X} = 21.48b$) al ser evaluado en laboratorio.

5.4.1. CL₅₀ en laboratorio.

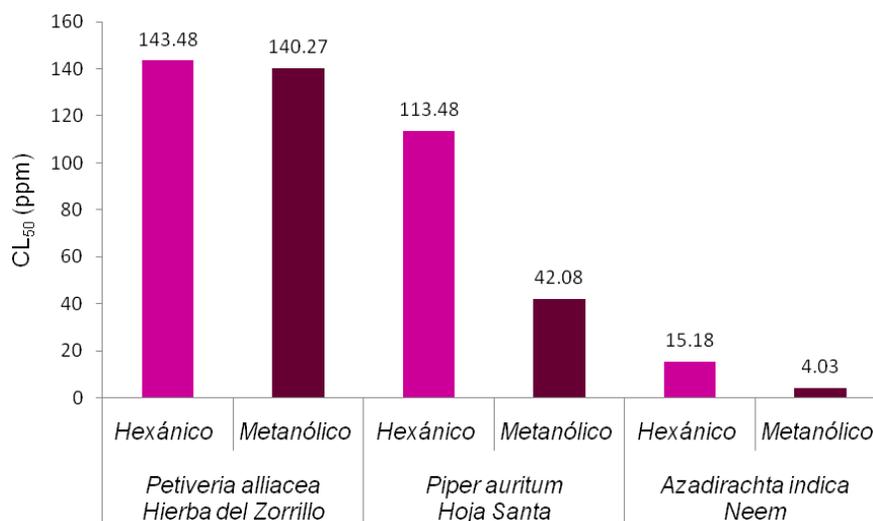


Figura 25. CL₅₀ de extractos de *P. alliaceae*, *P. auritum* y *A. indica* en *Spodoptera exigua* bajo condiciones de laboratorio

La CL₅₀ evaluada en laboratorio se muestra en el Cuadro 7 y Figura 25. Se observa que los extractos hexánico y metanólico de *A. indica* fueron más tóxicos que el resto, presentando los valores más bajos en la CL₅₀ (15.18 y 4.03 ppm, respectivamente) lo cual muestra que hay mayor efecto a menor concentración. En el caso de *P. auritum*, la CL₅₀ del extracto hexánico fue de 113.48 ppm y para

el extracto metanólico de 42.08 ppm, siendo el segundo más efectivo para matar a la mitad de la población de *S. exigua*.

Cuadro 7. CL₅₀ de *P. alliaceae*, *P. auritum* y *A. indica* en *Spodoptera exigua* en laboratorio.

Planta	Solvente de Extracción	Tiempo de exposición (días)	CL ₅₀ (ppm)
<i>Petiveria alliaceae</i> Hierba del Zorrillo	Hexánico	5	143.48
	Metanólico	5	140.27
<i>Piper auritum</i> Hoja Santa	Hexánico	5	113.48
	Metanólico	5	42.08
<i>Azadirachta indica</i> Neem	Hexánico	5	15.18
	Metanólico	5	4.03

La efectividad de los insecticidas vegetales contra larvas del género *Spodoptera* ya ha sido demostrada con los extractos obtenidos de *Azadirachta indica* (Martinez y Van Emden, 2001), por lo que se corroboró su toxicidad al ser la especie más efectiva tanto en laboratorio como en campo. Con respecto al género *Piper*, Regnault-Roger *et al.* (2004), señalan que contiene piperamidas. Se han aislado cuatro amidas probadas en larvas de diferentes insectos plaga obteniendo una CL₅₀ entre 4 y 14 ppm, por lo que cuando se mezclan se obtiene un producto mucho más tóxico que cada uno por separado, por lo que la CL₅₀ obtenida en el ensayo puede ser acorde con lo señalado anteriormente pues el resultado obtenido en larvas de *S. exigua* con extracto metanólico de *P. auritum* fue el esperado.

5.4.2. CL₅₀ en campo

La CL₅₀ evaluada en campo con extractos metanólicos representados en la Figura 26, muestra una tendencia similar comparado con el extracto metanólico en laboratorio.

Las concentraciones utilizadas en campo para matar a la mitad de la población de *S. exigua* fueron más altas (5, 10 y 15 %) que en laboratorio (1, 5 y 10 %), ya que en campo los extractos son más susceptibles al manifestar degradación más rápida por agentes climáticos (temperatura, humedad relativa, radiación solar), por lo que estos factores pudieron ejercer un menor efecto en la CL₅₀ que en laboratorio.

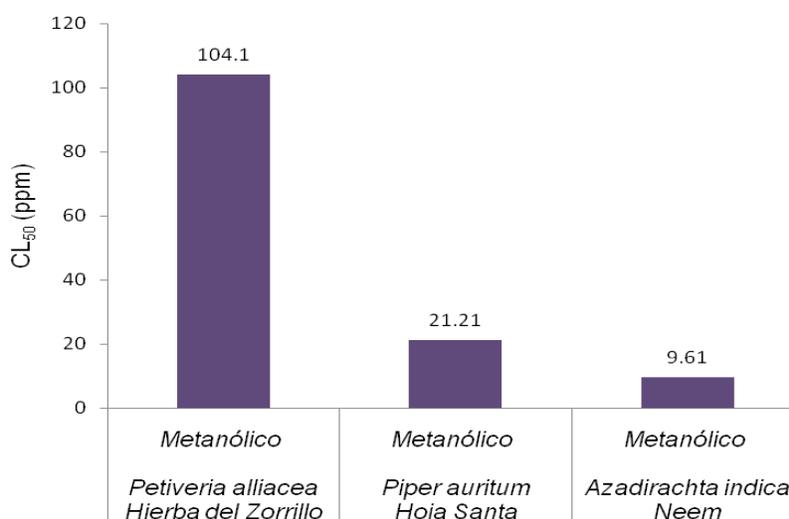


Figura 26. CL₅₀ de extractos de *P. alliacea*, *P. auritum* y *A. indica* en *Spodoptera exigua* en campo.

El Cuadro 8 muestra que el extracto con mayor toxicidad en campo fue *A. indica* al igual que en laboratorio con una CL₅₀=9.61 ppm. El extracto con mediana toxicidad fue el de *P. auritum* que presentó una CL₅₀=21.21 ppm y *P. alliacea* presentó la más baja toxicidad con una CL₅₀ = 104.1 ppm.

La toxicidad de un extracto crudo para la protección de los cultivos puede ser poco favorable, ya que las concentraciones deben de estar sujetas a las

variaciones del estado fisiológico de la planta y la composición de un extracto es temporalmente poco estable (Regnault-Roger *et al.*, 2004).

Cuadro 8. CL₅₀ de *P. alliaceae*, *P. auritum* y *A. indica* en *Spodoptera exigua* en campo

Planta	Solvente de Extracción	Tiempo de exposición (h)	CL ₅₀ (ppm)
<i>Petiveria alliaceae</i> Hierba del Zorrillo	Metanólico	3	104.1
<i>Piper auritum</i> Hoja Santa	Metanólico	3	21.21
<i>Azadirachta indica</i> Neem	Metanólico	3	9.61

Son pocos los estudios que evalúan la toxicidad (CL₅₀) en campo, la mayoría son bajo condiciones de invernadero, pues las condiciones ambientales son mayormente manejables y los resultados más exactos, sin embargo la agricultura orgánica a campo abierto ha incrementado en los últimos años, por lo que la aplicación de productos de origen vegetal (ajo, Neem, clavo, romero, cítricos, etc.), es mayor con resultados positivos para el control de insectos plaga en diversos cultivos hortícolas y cereales (Winter y Davis, 2006).

Los datos obtenidos indican que la toxicidad de las tres especies en laboratorio y campo es dependiente de la concentración y tiempo de exposición, ya que la mortalidad se vio afectada tanto por la concentración de la planta tanto por la especie del insecto.

Basado en los valores de la CL₅₀, evaluados en *Spodoptera exigua* fue menos susceptible al extracto de *P. alliaceae* y más susceptible al de *A. indica*, tanto en campo como en laboratorio, por lo que las especies evaluadas pueden ser una

alternativa para el control de este insecto plaga sin causar contaminación en el medio ambiente.

Se encontró que son marcadas las diferencias que existen entre las variaciones de toxicidad por especie y el tipo de extracto; además se observó que existe una respuesta diferencial del insecto receptor a la diferente polaridad y composición química de los extractos.

VI. CONCLUSIONES

1. El estudio por cromatografía de capa fina confirmó en el extracto metanólico la presencia de terpenoides en *Azadirachta indica*, en *Piper auritum* de alcaloides y flavonoides; finalmente en *Petiveria alliacea* de alcaloides y flavonoides.
2. El mayor efecto de disuasión alimentaria en larvas de *S. exigua* fue la concentración más alta 10 % (NM3) del extracto metanólico de *A. indica* (Neem).
3. El menor efecto en el índice de supresión alimentaria fue el extracto hexánico de Neem y en el extracto metanólico la concentración media 5% (ZM2) de *Azadirachta indica* presentó el mayor efecto que el resto de los tratamientos.
4. El extracto metanólico fue más toxico que el hexánico en laboratorio, debido a la presencia de diferentes tipos de metabolitos secundarios.
5. La especie que presentó mayor toxicidad en larvas de *Spodoptera exigua* 4° instar en laboratorio y campo fue *Azadirachta indica* y el menor efecto se observo en *Petiveria alliacea*.
6. El porcentaje de mortalidad y la CL₅₀ más efectiva en laboratorio y campo fue *Azadirachta indica* seguida por *Piper auritum* y la menos efectiva fue *Petiveria alliacea*.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- ALONSO, J. R. 1998. Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. ISIS. Buenos Aires, Argentina. 798 p.
- BATABYAL, L., SHARMA, P., MOHAN, L., MAURYA, P.; SRIVASTAVA, C. 2009. Relative toxicity of neem fruit, bitter gourd, and castor seed extracts against the larvae of filarial vector, *Culex quinquefasciatus* (Say). Parasitology Research 105: 1205-1210.
- BENAVIDES, P. J. C., YOUNG M. C. M., GIESBRECHT A. M. 2001. Antifungal polysulphides from *Petiveria alliaceae* L. Phytochemistry Rev 57: 743-747.
- BERNAL, H. Y., CORREA, J. E. 1998. Especies Vegetales Promisoras de los Países del Convenio Andrés Bello. Tomo XII. SECAB. Santa Fé de Bogotá, Colombia. 422 p.
- BEZERRA, G. P., DA SILVA, O. M., ALVES, N. C., COELHO, N. E., VASCONCELOS, C. L., SOUSA, B. J., ANDRADE, N. M., MENDES, V. S., FRANCA, F., BARROS, V. G.; FLORENCO DE SOUSA, F. 2005. Study of Antinociceptive Effect of Isolated Fractions from *Petiveria alliacea* L. (tipi) in Mice. Biological & Pharmaceutical Bulletin 28 (1): 42-46.
- BUCHANAN, JONES.; CROTEAU, T. M.; KUTCHAN, LEWIS. N. G. 2000. *Biochemistry and molecular biology of plants*. american society of plant physiologists. Capítulo 24. "Natural Products (Secondary Metabolites)". Rockville, Maryland, Estados Unidos.
- CAMPBELL, J. W. S.; KELLOGG, C. S.; STEVENS, E. A.; DONOGHUE, P. F. 2002. Secondary plant compounds. Plant systematics: a phylogenetic approach, pp. 45-91. *In*: Structural and Biochemical Characters. CAMPBELL, J. W. S.; KELLOGG, C. S.; STEVENS, E. A.; DONOGHUE, P.F. (eds.). Sinauer Axxoc, USA.

-
- CASTAÑEDA, M. L.; MUÑOZ, A.; MARTINEZ, J. R.; STANSHENKO, E. E. 2007. Estudio de la composición química y la actividad biológica de los aceites esenciales de diez plantas aromáticas colombianas. *Scientia et Technica* 33: 165-166.
- CASTELLANOS, J. Z.; UVALLE, B. J. X.; AGUILAR, S. A. 2000. Manual de interpretación de análisis de suelos y aguas. INCAPA. México. 143 p.
- DE SOUZA, J. R.; DEMUER A. J.; PINHEIRO J. A. 1990. Dibenzyl trisulphide and trans-N-methyl- α -methoxyproline from *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry Rev* 29. 3653-3655.
- DE SOUZA, T. W.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; DE SOUSA, F. S.; COLA, Z. J.; SERRÃO, J. E. 2009. Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). *Industrial Crops and Products* 30: 384-388.
- DENNIS. H. S. 2008. Pests of Crops in Warmer Climates and Their Control. Springer Science + Business Media, B.V. United Kingdom. pp 679.
- DODSON, M.; BACHMANN, J.; WILLIAMS, P. 2002. Organic Greenhouse Tomato Production. ATTRA. USDA. 223 p.
- FINNEY, D.J. 1971. Probit Analysis. 3rd. ed. Cambridge University Press. London.
- GARCÍA, E. 1988. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Köppen. 4^a Ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 217 p.
- GARCÍA, G. M.; COTO, M. T.; OCAMPO, R.; PAZOS, L. 2006. Subchronic and acute preclinic toxicity and some pharmacological effects of the water extract from leaves of *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae). *Revista de Biología Tropical* 54 (4): 1323-1326.

-
- GONZÁLEZ, A.; LÓPEZ, C.; SANTANA O.; REINA, M. 2010. Triterpene based plant defenses. *Phytochemistry Rev.* Published online: 11 June 2010
- IGLESIAS, P. 1988. *El libro del tomate. El libro de bolsillo, Sección libros útiles.* Alianza Editorial, Madrid. España. 363 pp.
- INDERJIT, M.; DAKSHINI, K. M.; FOY, CH. L. 1999. *Principles and Practice in Plant Ecology. Allelochemical Interactions.* CRC Press. USA. 589 pp.
- ISMAN, M. B. 1997. Neem Insecticides. *Pesticide Outlook* 8: 32-38.
- ISMAN, M. B. 2006. The role of botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 51-66.
- KUROSE, K.; YATAGAI, M. 2005. Components of the essential oils of *Azadirachta indica* A. Juss, *Azadirachta siamensis*, and *Azadirachta excels* (Jack) Jacobs and their comparison. *Journal Wood Science* 51: 185-188.
- LAGUNES, T.A.; VILLANUEVA, J.J. 1999. *Toxicología y Manejo de Insecticidas.* Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. México. 264 p.
- LEES, G.; BURT, P. E. 1988. Neurotoxic actions of a lipid amide on the cockroach nerve cord and on locust somata maintained in short-term culture: a novel preparation for the study of Na⁺ channel pharmacology. *Pesticid Science* 24: 189–191.
- LIBURD, O. E.; FUNDERBURK, J. E.; OLSON, S. M. 2000. Effect of biological and chemical insecticides on *Spodoptera* species (Lep., Noctuidae) and marketable yields of tomatoes. *Journal of Applied Entomology* 124: 19-25.
- LYNDON, J.; LAWRENCE W.; EARLE V. R. 1997. An insecticidal an acaricidal polysulfide metabolite from the roots of *Petiveria alliacea*. *Pesticide Science* 50: 228-232.

-
- MALDONADO, A. B.; ORTIZ, S. A.; DORADO, R. O. 2004. Preparados galénicos e imágenes de plantas medicinales. CEAMISH-UAEM, México. 24 p.
- MARTÍNEZ, S. S.; VAN EMDEN, H. F. 2001. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotropical Entomology* 30(1): 113-125.
- MATOS NETO, F. C.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J. C.; SILVA, C. H. O.; PICANCO, M. C. 2004. Parasitism by *Campoletis flavicincta* on *Spodoptera frugiperda* in corn. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 1077-1081.
- MEAGHER, R. L.; BRAMBILA, J.; HUNG, E. 2008. Monitoring for exotic *Spodoptera* species (Lepidoptera: Noctuidae) in Florida. *Florida Entomologist* 91(4): 517-522.
- MERKX- JACQUES, M.; DESPLAND, E.; BEDE, J.C. 2008. Nutrient utilization by caterpillars of the generalist beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Physiological Entomology* 33: 51-61.
- MORDUE, A.J. 2004. Neem: Today and in the New Millennium, pp. 229-242. *In: Present Concepts of the Mode of Action of Azadirachtin from Neem*. KOUL., WAHAB, S. (eds.). Kluwer Academic Publisher. U. K.
- NAVEJAS, J. J. 2002. Producción orgánica de tomate. INIFAP-CIRNO. Desplegable técnica No. 5, México. 86 p.
- OLIVERO-VERBEL, J.; GYETTE-FERNANDEZ, J.; STASHENKO, E. 2009. Acute toxicity against *Artemia franciscana* or essential oils isolated from plants of the genus *Lippia* and *Piper* collected in Colombia. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 5: 419-427.
- PAVELA, R. 2007. Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. *Pest Technology* 1: 47-52.

-
- PAVELA, R.; VRCHOTOVÁ, N.; SERÁ, B. 2008. Growth inhibitory effect of extracts from *Reynoutria* sp. plants against *Spodoptera littoralis* larvae. *Agrociencia* 42(5): 573-584.
- PAVELA, R.; KAZDA, J.; HERDA, G. 2009. Effectiveness of Neem (*Azadirachta indica*) insecticides against *Brassica* pod midge (*Dasineura brassicae* Winn.). *Journal of Pest Science* 82: 235-240.
- REED, E.; MAJUMDAR, S. K. 1998. Defferential cytotoxic effects of azadirachtin of *Spodoptera frugiperda* and mouse cultured cells. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89: 221-221.
- REGNAULT-ROGER C. 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* 2: 25-34.
- REGNAULT-ROGER C.; J.R. PHILOGENE, B.; VINCENT, C. 2004. *Biopesticidas de origen vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 337 pp.
- ROSSETTI, M.R.; DEFAGO, M.T.; CARPINELLA, M. C.; PALACIOS, S. M.; VALLADARES, G. 2008. Actividad biológica de *Melia Azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 67 (1-2): 115-125.
- SAEED, S.; SAYYED, A. H.; AHMAD, I. 2009. Effect of host plants on life-history traits of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Pest Science* 83: 165-172.
- SCOTT, I. M.; JENSEN, H. R.; PHILOGÉNE, B. J.; ARNASON, J. T. 2008. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Rev* 7. 65-75.

SILLER CEPEDA J.H. 2003-2004. Contenido Nutricional de Frutos Híbridos de jitomate de Cultivares Comerciales y Experimentales. Validación de Variedades de Hortalizas. Informe y resultados. Campo experimental Culiacán. Fundación Produce Sinaloa A.C. Otoño-Invierno.

SILVA, G.; LAGUNES, A.; RODRÍGUEZ, J.; RODRÍGUEZ, D. 2002. Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 66:4-12.

System analysis statistical (SAS) versión 9.0.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2002. Secondary metabolites and plant defense, pp. 283-308. *In: Plant Physiology*. TAIZ, L.; ZEIGER, E. (eds.). Sinauer Associates, Inc. Publishers, USA.

TANZUBIL, P.B.; MCCAFFREY A.R. 1990. Effects of azadirachtin in the African armyworm (*Spodoptera exempta*), *Entomologia Experimentalis et Applicata* 57: 115-121.

ULRICHS, C.; MEWIS, I.; ADHIKARY, S. 2008. Antifeedant activity and toxicity of leaf extracts from *Porteresia coarctata* Takeoka and their effects on the physiology of *Spodoptera litura* (F). *Journal of Pest Science* 81: 79-84.

VIVANCO, M. J.; COSIO, E.; LOYOLA, V.M.; FLORES, H. E. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y Ciencia* 2:68-75.

WAGNER, H.; S. BLADT. 1996. *Plant Drug Analysis: A thin Layer Chromatography Atlas*. 2^a. Ed. Springer Verlag. New York.

WINK, M. (1993a). Quinolizidine alkaloids pp. 197-239. *In: Methods in Plant Biochemistry*. P. G. Waterman (Ed.). Academic Press, London, UK.

WINK, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry Reviews* 64: 3-19.

WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. 2006. Organic Foods. *Journal of Food Science* 71 (9): 24-39.

www.santasweets.com (Consulta: 9 julio 2009). SANTA SWEETS, INC. Grape tomato Santa.

www.tomatogrowers.com (Consultada: 10 enero 2011). Tomatoe growers supply company

ZAPATA, N.; BUDIA, F.; VIÑUELA, E.; MEDINA, P. 2009. Antifeedant and growth inhibitory effects of extracts and drimanes of *Drimys winteri* stem bark against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). *Industrial Crops and Products* 30: 119-125.