



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
ÁREA ACADÉMICA DE BIOLOGÍA
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
LABORATORIO DE ETNOBOTÁNICA

“ACTIVIDAD EN *Drosophila melanogaster* y *Sitophilus zeamais* (INSECTA) DE ACEITES ESENCIALES DE PLANTAS USADAS PARA COMBATIR INSECTOS EN HIDALGO”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA

CÁZARES HERNÁNDEZ JESSICA

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. MIGUEL ÁNGEL VILLAVICENCIO NIETO

PACHUCA DE SOTO, HIDALGO

2006

DEDICATORIA

**A MIS PADRES REYNA Y MARTÍN POR
TODO EL APOYO, EL CARIÑO Y LA
CONFIANZA QUE ME HAN DADO A LO
LARGO DE MI VIDA.**

**A MI HERMANA ERICKA, A MI CUÑADO
SERGIO POR ESTAR SIEMPRE CONMIGO Y
POR SU APOYO, Y A MI QUERIDA SOBRINA
MAYLET.**

AGRADECIMIENTOS

EN PRIMER LUGAR A DIOS POR DARME LA FUERZA PARA SEGUIR ADELANTE DÍA CON DÍA.

AL M. EN C. MIGUEL ÁNGEL VILLAVICENCIO POR SU AYUDA Y PACIENCIA PARA TERMINAR ESTA TESIS.

A LA Q. BLANCA E. PÉREZ-ESCANDÓN POR SU AYUDA, COMPRENSIÓN Y AMISTAD.

AL Q. ALFREDO RAMÍREZ AGUIRRE POR SU AYUDA EN TODO LO REFERENTE AL TRABAJO QUÍMICO.

A LA DRA. MIRIAM M. ÁLVAREZ SUÁREZ, DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN AVANZADA EN INGENIERÍA INDUSTRIAL DE LA UAEH, POR LA REVISIÓN DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS.

AL DR. NUMA P. PAVÓN HERNÁNDEZ DEL CIB-UAEH POR SU AYUDA EN LO REFERENTE A ESTADÍSTICA.

A MIS TÍOS, PRIMOS, SOBRINOS Y DEMÁS FAMILIARES POR QUE SIEMPRE ESTÁN AL PENDIENTE DE MÍ Y POR SU APOYO.

A CLAUS Y FROY QUE SIEMPRE ESTUVIERON CONMIGO EN LAS BUENAS Y EN LAS MALAS.

A MI HERMANO ERNESTO POR SU AMISTAD, POR LAS COSAS QUE COMPARTIMOS Y POR SU AYUDA PARA TERMINAR MI TESIS.

A UNA DE MIS MEJORES AMIGAS, VIRI QUE NUNCA SE OLVIDO DE MI DURANTE TODO EL TIEMPO QUE DURÓ NUESTRA CARRERA.

A MIS AMIGAS DE LA CARRERA: MARISOL, PILAR, EDITH Y PATY CON LAS QUE COMPARTÍ MUCHAS COSAS Y LAS QUE ME BRINDARON SU AMISTAD SINCERA Y DESINTERESADA.

A MI TÍA LA M. EN C. MAGDALENA MEZA SANCHÉZ POR SU AMISTAD, AYUDA Y APOYO INCONDICIONAL.

A MIS AMIGOS GABRIEL, LUIS NÁJERA, MARIANO, ALFREDO, GIL, IRVING, JOB, HÉCTOR Y EFRAÍN POR TODO EL APOYO QUE ME DIERON DURANTE LA CARRERA, POR SU AMISTAD Y POR TODOS LOS MOMENTOS QUE COMPARTIERON CONMIGO. A JOEL POR SU AMISTAD Y APOYO.

AL DR. GONZALO SILVA AGUAYO POR LA INFORMACIÓN QUE ME FACILITÓ PARA REALIZAR LA REDACCIÓN DE MI TESIS.

AL DR. MURRAY B. ISMAN POR LA INFORMACIÓN QUE ME PROPORCIONÓ PARA MI TESIS.

A MIS COMPAÑEROS DE LA CARRERA POR TODO LO QUE COMPARTIMOS DURANTE CUATRO AÑOS Y MEDIO.

A MIS COMPAÑEROS DEL LABORATORIO POR LOS MOMENTOS QUE PASAMOS JUNTOS, LOS CUALES HICIERON MÁS AMENA MI ESTANCIA. PRINCIPALMENTE A MARITZA POR SU AMISTAD, APOYO Y POR ACOMPAÑARNOS EN LA DIFÍCIL TAREA DE LOS TRÁMITES PARA LA TITULACIÓN (AL FIN LO LOGRAMOS MARA!).

A MIS AMIGAS JÉSI, YURI Y BELI POR SUS PLÁTICAS Y COMPAÑÍA.

A MI COMADRE NAYELI Y A ROGELIO POR SU AMISTAD.

A TODAS LAS PERSONAS QUE SE ME OLVIDÓ MENCIONAR Y QUE DE ALGUNA MANERA ME APOYARON Y COMPARTIERON CONMIGO MUCHAS COSAS TODO ESTE TIEMPO.

AL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN (PII) CON EL PROYECTO “ANTIBACTERIANOS E INSECTICIDAS

VEGETALES DE 5 REGIONES DE HIDALGO” UAEH-DIP-ICBI-AA-B-006.

AL PROYECTO SIZA “VEGETACIÓN E INVENTARIO DE LA FLORA ÚTIL DE LA HUASTECA Y LA ZONA OTOMI-TEPEHUA DE HIDALGO” CLAVE 20020803001B.

INDICE

Contenido	Página
Índice de tablas	iii
Índice de figuras	v
Índice del anexo	vi
Resumen	x
Introducción	1
Antecedentes	10
➤ Metabolitos secundarios	12
➤ Aceites esenciales	13
Justificación	37
Hipótesis	38
Objetivos	39
➤ Objetivo general	39
➤ Objetivos particulares	39
Metodología	40
➤ Revisión bibliográfica	40
➤ Colecta de las plantas	40
➤ Extracción de aceites esenciales	41
➤ De las muestras vegetales completas y de la parte aérea	41
➤ De los órganos vegetales	41
➤ Cromatografía de gases (CG/EM) de los aceites esenciales	43
➤ Cultivo de <i>Drosophila melanogaster</i> (Canton-S)	44

➤ Cultivo de <i>Sitophilus zeamais</i> Mots.	45
➤ Actividad insecticida de los aceites esenciales	46
➤ Bioensayos con <i>Drosophila melanogaster</i> cepa silvestre Canton-S	46
➤ Bioensayo con <i>Sitophilus zeamais</i>	47
➤ Análisis estadísticos	48
Resultados	49
➤ Rendimiento de aceites esenciales	49
➤ Rendimiento de los aceites esenciales totales	49
➤ Rendimiento de aceites esenciales de los órganos de las cinco especies	49
Cromatografía de gases de los aceites esenciales	51
Actividad insecticida de aceites totales en <i>Drosophila melanogaster</i>	55
Actividad insecticida de aceites totales en <i>Sitophilus zeamais</i>	58
Actividad insecticida de aceites esenciales de los órganos de las cinco especies seleccionadas en <i>Drosophila melanogaster</i>	60
Discusión	67
Conclusiones	72
Literatura citada	74
Anexo: Cromatogramas y espectros de masas	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento de aceites esenciales totales obtenidos de muestras frescas de las cinco especies seleccionadas.	49
Tabla 2. Rendimiento en porcentaje de los aceites esenciales de los órganos de cada una de las especies estudiadas.	50
Tabla 3. Principales componentes de los aceites esenciales de <i>Artemisia ludoviciana</i> spp. <i>mexicana</i> identificados por CG- EM.	51
Tabla 4. Principales componentes de los aceites esenciales de <i>Parthenium hysterophorus</i> identificados por CG- EM.	52
Tabla 5. Principales componentes de los aceites esenciales de <i>Tagetes erecta</i> identificados por CG- EM.	53
Tabla 6. Principales componentes de los aceites esenciales de <i>Zaluzania triloba</i> identificados por CG- EM.	53
Tabla 7. Principales componentes de los aceites esenciales de <i>Liquidambar macrophylla</i> identificados por CG- EM.	54
Tabla 8. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas en <i>Drosophila melanogaster</i> . Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.	56
Tabla 9. CL ₅₀ de los aceites esenciales totales de las cinco especies de plantas en <i>Drosophila melanogaster</i> .	56
Tabla 10. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas en <i>Sitophilus zeamais</i> . Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.	58
Tabla 11. CL ₅₀ de los aceites esenciales totales de las cinco especies de plantas en <i>Sitophilus zeamais</i> .	58
Tabla 12. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de <i>Artemisia ludoviciana</i> spp. <i>mexicana</i> en <i>Drosophila melanogaster</i> . Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.	60

Tabla 13. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* en *Drosophila melanogaster*. 61

Tabla 14. Mortalidad producida por los aceites esenciales de *Tagetes erecta* en *Drosophila melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas. 63

Tabla 15. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Tagetes erecta* probados en *Drosophila melanogaster*. 63

Tabla 16. Mortalidad producida por los aceites esenciales de *Zaluzania triloba* en *Drosophila melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas. 64

Tabla 17. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Zaluzania triloba* probados en *Drosophila melanogaster*. 65

Tabla 18. Mortalidad producida por los aceites esenciales de *Liquidambar macrophylla* en *Drosophila melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas. 66

Tabla 19. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Liquidambar macrophylla* probados en *Drosophila melanogaster*. 66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Artemisia ludoviciana</i> spp. <i>mexicana</i>	19
Figura 2. <i>Parthenium hysterophorus</i>	24
Figura 3. <i>Tagetes erecta</i>	28
Figura 4. <i>Zaluzania triloba</i>	32
Figura 5. Follaje y frutos de <i>Liquidambar macrophylla</i>	34
Figura 6. Cultivo de <i>Drosophila melanogaster</i> en el Laboratorio de Etnobotánica	44
Figura 7. Cultivo de <i>Sitophilus zeamais</i> en el Laboratorio de Etnobotánica.	45
Figura 8. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>d. Melanogaster</i> , provocada por los aceites esenciales totales de las plantas estudiadas. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas	57
Figura 9. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>s. Zeamais</i> , provocada por los aceites esenciales totales de las plantas estudiadas. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.	59
Figura 10. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>d. Melanogaster</i> , provocada por los aceites esenciales de los órganos de <i>artemisia ludoviciana</i> spp. <i>Mexicana</i> . Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.	61
Figura 11. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>d. Melanogaster</i> , provocada por los aceites esenciales de los órganos de <i>parthenium hysterophorus</i> . Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.	62
Figura 12. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>d. Melanogaster</i> , provocada por los aceites esenciales de los órganos de <i>tagetes erecta</i> . Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.	64
Figura 13. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>d. Melanogaster</i> , provocada por los aceites esenciales de los órganos de <i>zaluzania triloba</i> . Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.	65
Figura 14. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de <i>d. Melanogaster</i> , producida por los aceites esenciales de los órganos de <i>liquidambar macrophylla</i> . Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.	66

ÍNDICE DEL ANEXO

- C 1. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min. 90
- E 1. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, con tiempo de retención de 6.847 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1,8- cineol. 91
- E 2. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, con tiempo de retención de 9.029 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a d- alcanfor (abajo). 92
- E 3. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, con tiempo de retención de 9.437 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1- borneol (abajo). 93
- C 2. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Parthenium hysterophorus*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min. 94
- E 4. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *P. hysterophorus* con tiempo de retención de 14.991 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1,4,6,7,8,9-hexahidro-2 - metoxi-3 metil-6,6-diisopropilnaftaleno (abajo). 95
- E 5. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *P. hysterophorus* con tiempo de retención de 17.059 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 6- amino-1H-indazol-5-ácido carboxílico (abajo). 96
- C 3. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Tagetes erecta*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min. 97
- E 6. Espectro de EM del compuesto los aceites de *T. erecta* con tiempo de retención de 10.664 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la

- biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 3- metil-6-(1-metiletil)-2-ciclohexan-1-ona o piperitenona (abajo). 98
- E 7. Espectro de EM del compuesto los aceites esenciales de *T. erecta* con tiempo de retención de 11.953 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 3- metil-6- (1-metiletilideno)-2-ciclohexan-1-ona (abajo). 99
- C 4. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Zaluzania triloba*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min. 100
- E 8. Espectro de EM del compuesto de los aceites esenciales de *Z. triloba* con tiempo de retención de 16.098 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a delta- cadineno (abajo). 101
- C 5. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Liquidambar macrophylla*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min. 102
- E 9. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *L. macrophylla* con tiempo de retención de 9.640 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1-alfa- terpineol (abajo). 103
- E 10. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *L. macrophylla* con tiempo de retención de 9.474 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a terpinen-4-ol (abajo). 104
- E 11. Espectro de EM del compuesto los aceites de *L. macrophylla* con tiempo de retención de 25.274 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1,2-benceno ácido dicarboxílico bis (2-etilhexil) ester (abajo). 105
- Anexo H1. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales totales de las especies estudiadas. 106
- Anexo H2. Prueba de homogeneidad de varianza para *Sitophilus zeamais* y los aceites esenciales totales de las especies estudiadas. 106
- Anexo H3. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*. 107

Anexo H4. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Tagetes erecta*. 107

Anexo H5. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Zaluzania triloba*. 108

Anexo H6. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Liquidambar macrophylla*. 108

Resumen

En México las plantas se utilizan ampliamente como ornamentales, medicinales, comestibles, para la construcción, como insecticidas entre otros usos. En lo que se refiere al Estado de Hidalgo, el uso insecticida de las plantas es una práctica muy difundida. Entre las plantas usadas como insecticidas se encuentran *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*, *Parthenium hysterophorus*, *Tagetes erecta*, *Zaluzania triloba* y *Liquidambar macrophylla*, las cuales fueron seleccionadas para realizar el presente estudio con el fin de evaluar el efecto insecticida de sus aceites esenciales en *Drosophila melanogaster* y *Sitophilus zeamais*.

Los aceites de *L. macrophylla* presentaron la concentración letal 50 (CL₅₀) más baja en *D. melanogaster*, que fue de 0.03906; mientras que los de *Z. triloba* fueron los que presentaron una CL₅₀ de 1.1805 mg/cm³ en *S. zeamais*. Por otro lado, al probar los aceites esenciales de los órganos de las cinco especies en *D. melanogaster*, se obtuvo que los aceites de las flores de *A. ludoviciana* spp. *mexicana* y los de *Z. triloba* presentaron una CL₅₀ de 0.7685 y 0.4430 respectivamente, las hojas de *T. erecta* una CL₅₀ de 0.2703 y los del fruto de *L. macrophylla* una CL₅₀ de 0.0165.

Los resultados obtenidos demuestran que los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas presentaron efecto insecticida, validando así las propiedades que la gente atribuye a estas plantas.

Introducción

Durante milenios, el hombre se ha servido de vegetales de su entorno para alimentarse y para otros fines. El hombre prehistórico desarrolló un saber especial sobre qué plantas podía ó no utilizar en su propio beneficio; a lo largo de la historia, estos conocimientos tradicionales se han ido transmitiendo de generación en generación; de pueblo en pueblo, de continente en continente (López, 2000).

Las plantas se utilizan para casi todo (López, 2000), otorgan a la humanidad muchos y variados beneficios, además de los predominantes usos medicinal y comestible. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre 66 % y 88 % de la población del planeta recurre a la herbolaria para atender la curación de diversos padecimientos y enfermedades (Akerelle *et al.*, 1991). Cientos de especies, entre las trescientas mil plantas que existen en el planeta, son utilizadas por diversas culturas. Las comunidades humanas, sobre todo las que habitan en el medio rural, conocen y disponen de amplios grupos de vegetales durante las distintas épocas del año (Villavicencio *et al.*, 1995).

Existen plantas utilizadas como ornamento y forraje; de otras se extraen colorantes y/o aromatizantes para la industria de la perfumería; algunas se usan en la elaboración de refrescos, zumos o bebidas alcohólicas o como condimentarias, para extraer aceites comestibles; para elaborar artesanías, cestas o cuerdas que se utilizan en la construcción de casas y cercas, otras se emplean en el curtido de

pieles, por mencionar algunos usos (Schultes y von Reis, 1997; Balick y Cox, 1999; López, 2000).

En el reino vegetal se encuentran especies de uso insecticida como la albahaca (*Ocimum basilicum*), el pelitre de África (*Anacyclus pyrethrum*), el pelitre (*Chrysanthemum cinerariaefolium* y *C. roseum*), la hierba piojera o matapijos (*Delphinium staphisagria*), la gloriosa (*Gloriosa superba*), hojas y frutos del agriar (*Melia azederach*), la madera de la cuasia (*Quassia amara*), la chinchilla (*Tagetes minuta*), entre otras (Arnason *et al.*, 1989).

Los chinos y probablemente también los egipcios desde hace 2500 a. C., utilizaron las cenizas de madera contra plagas de almacén (Rodríguez *et al.*, 2003); hecho que constituye la primera referencia del uso de derivados de plantas con propiedades insecticidas. Posteriormente, 1000 años a. C., también en China, se consigna el uso de extractos y polvos de *Derris* sp. para controlar insectos (Silva, 2002).

En el año 400 a. C., en Persia (hoy Irán) se aplicaba el polvo de la flor de piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) en la cabeza de los niños para el control de piojos (Silva, 2001a). Por el año 200 a. C. se recomendó dirigir el humo producido por la combustión de una pasta de olivo a la vid para destruir pulgones (Duke, 1990). Después, hacia el año 100 a. de C., los Romanos utilizaron heleboro (*Helleborus* spp.) para el control de ratas, ratones e insectos y 100 años d. de C. se usó pepino (*Cucumis sativus*) contra langostas y chinche de cama (Rodríguez *et al.*, 2003).

Sin embargo, el primer insecticida natural propiamente dicho, apareció aproximadamente en el siglo XVII, cuando se demostró que la nicotina obtenida de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), mataba a unos escarabajos que atacaban al ciruelo (Silva, 2002).

Hacia 1850 se introdujo un insecticida vegetal conocido como rotenona que se obtuvo de las raíces de una planta llamada vulgarmente timbó (*Lonchocarpus nicou*) (Silva, 2001a). Hasta ese momento, esta planta sólo se utilizaba para pescar, pues los indígenas se habían dado cuenta que si lanzaban trozos de esta raíz al agua a los pocos minutos comenzaban a flotar peces que eran muy fáciles de atrapar. Con posterioridad se usaron plantas como la sabadilla (*Schoenocaulon officinale*), que se utilizaba para descongestionar las fosas nasales, con la que no mataban directamente a los insectos sino que los ahuyentaban. Otras plantas, pero de uso más reciente, fueron riania (*Ryania speciosa*), nim (*Azadirachta indica*) y zacate limón (*Cymbopogon citratus*) (Duke, 1990; Silva, 2002). Así, los productos vegetales se utilizaron ampliamente para combatir insectos hasta la primera mitad del siglo XX (Duke, 1990).

En un sentido amplio, una plaga se define como cualquier especie que el hombre considere perjudicial a su persona, a su propiedad o a su medio (Restrepo, 1992). En la agricultura, puede ser cualquier población vegetal o animal que estorba al proceso de desarrollo del cultivo y al plan de trabajo de la tierra. La plaga puede incluir malezas, insectos, microorganismos, hongos, nemátodos, etc. En el campo de la salud puede ser cualquier organismo que transmite enfermedades. Se considera que

un organismo de peligro potencial se convierte en plaga cuando provoca pérdidas materiales y, por ende, un daño económico (Restrepo, 1992; WHO, 2003).

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicios o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, maderas y productos de madera o alimentos para animales o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos (Restrepo, 1992; WHO, 2003).

Los plaguicidas más frecuentes son los insecticidas; un insecticida es aquella sustancia que mata insectos (FAO y OMS, 2004). Existen varias formas de clasificar a los insecticidas, entre las más comunes están las siguientes (Restrepo, 1992):

1. por su naturaleza química en:
 - a) inorgánicos,
 - b) orgánicos
 - naturales: botánicos y microbianos
 - sintéticos
2. por su modo de acción:
 - a) contacto
 - b) ingestión
 - c) fumigante

d) sistémicos.

3. por su composición:

a) organoclorados

- relativos al DDT
- relativos del benceno
- ciclodienos

b) organofosforados

- alifáticos
- cíclicos
- heterocíclicos

El hombre ha considerado algunos insectos, como una plaga que hay que destruir, por lo que constituyen uno de los problemas que no se ha podido erradicar. Las plagas de insectos generan un daño considerable a la humanidad debido a que transmiten y causan enfermedades en las personas y los animales domésticos, además de que atacan a los cultivos. Se estima que en países como en México, se pierde entre el 30 y 40 % de los productos agrícolas por el ataque de los insectos (Hernández del Ángel *et al.*, 2000; Romo, 2000).

En los años 40's aparecieron en el mercado los insecticidas organosintéticos, tales como el DDT, paratión, aldicarb, malatión y dimetoato, entre otros; mismos que por su eficacia biológica y bajo costo, reemplazaron a los de origen vegetal (Silva *et al.*, 2002). Su uso trajo como consecuencia un mayor rendimiento agrícola debido a la

prevención de daños por insectos (Metcalf y Flint, 1984), la reducción de la malaria a escala mundial y el control del tifus a través del combate de los vectores (Arata, 1984). Debido a que los insecticidas orgánicos sintéticos pueden controlar al 90 % o más de la población de la plaga blanco y a que su efecto es casi inmediato, se creyó que prácticamente se había logrado el control de plagas y vectores de enfermedades humanas (Arata, 1984). En consecuencia, se pensó que los problemas de pérdidas de cosechas a causa de insectos plaga eran cosa del pasado (Silva *et al.*, 2002).

Lamentablemente al poco tiempo comenzaron a aparecer los problemas, por ejemplo se comprobó que varias especies de insectos habían desarrollado resistencia a los insecticidas. Ahora se sabe que este problema ha ido en aumento, en 1948 había nueve especies de plagas agrícolas con resistencia, en 1961 había 60, hacia 1981 ya eran 250 (Berenbaum, 1989) y en 1986 había cerca de 450 especies de insectos y ácaros resistentes a uno o más plaguicidas sintéticos (Berger, 1994).

Además el uso de los insecticidas químicos ha traído como consecuencia, intoxicación de peces, aves y seres humanos; contaminación del agua, aire y suelo, acumulación de residuos en los alimentos y subproductos, eliminación de enemigos naturales, y desarrollo de resistencia en plagas primarias y secundarias (Rodríguez y Djair, 1998). Además de que se dañan otros tipos de insectos como polinizadores y depredadores, e inclusive seres humanos (Saxena, 1989) en los que, además de efectos inmediatos, a largo plazo pueden producir efectos carcinogénicos, teratogénicos y mutagénicos (Albert y Aranda, 1986).

La problemática descrita, especialmente para controlar especies resistentes, ha hecho que exista la necesidad de sintetizar nuevos insecticidas que pudieran controlar estas especies, pero la producción de estas sustancias parece estar alcanzando un límite. En efecto, en el periodo 1961-1970 se introdujeron 19 nuevos insecticidas, en la siguiente década, de 1971 a 1980 sólo se introdujeron 8, y de 1980 a 1990 fueron sólo 3 (Berenbaum, 1989).

Indudablemente los logros alcanzados por el uso de los insecticidas organosintéticos han sido importantes, en especial en lo que se refiere a la agricultura y a la salud, pero también es cierto que su utilización ha generado una serie de graves problemas, algunos de los cuales han sido señalados en los párrafos anteriores. Ante este panorama parecería que parte de la solución consistiría en contar con nuevos insecticidas, los cuales deberían ser más específicos y cuyo uso redujera las probabilidades de causar daños ecológicos y a la salud (Prakash y Rao, 1997).

Debido a estos problemas, hoy en día se está presentando lo que se podría denominar como “una segunda época” en el uso de los insecticidas de origen vegetal para el manejo de plagas (Silva, 2001b). Así, se han vuelto a utilizar insecticidas vegetales como rotenona (*Lonchocarpus* spp., Fabaceae), riania (*Ryania speciosa*, Flacourtiaceae), tabaco (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae), piretro (*Tanacetum cineriaefolium*, Asteraceae), nim (*Azadirachta indica*, Meliaceae), cuasia (*Quassia amara*, Simaroubaceae) e higuera (*Ricinus communis*, Euphorbiaceae) (Silva et al., 2002).

Los insecticidas vegetales han vuelto a ser considerados como una opción válida para el combate de insectos por ser muchas las ventajas que ofrecen, especialmente desde el punto de vista ecológico (Silva, 2001b). En general, poseen baja toxicidad para mamíferos, lo que constituye un bajo riesgo para su salud y contaminación del medio ambiente, prácticamente no hay riesgo para el desarrollo de resistencia por parte de las plagas a estos productos cuando son usados de forma natural, causan bajo riesgo en los organismos que no son el blanco, la reaparición de las plagas no ha sido reportado excepto cuando se utilizaron piretrinas sintéticas, no hay efectos adversos en el crecimiento de las plantas, en la viabilidad de las semillas ni en la calidad alimenticia de los granos, son menos costosos y es más fácil obtenerlos por su ocurrencia natural (Rodríguez y Lagunes, 1992; Rodríguez y Djair, 1996; Prakash y Rao, 1997).

Otras ventajas de los insecticidas de origen vegetal son (Lundberger, 2002; Silva, 2002):

1. Que estos insecticidas son conocidos por el agricultor, debido a que generalmente se encuentran en su mismo medio,
2. Pueden poseer otros usos como medicinales o repelentes de insectos caseros,
3. Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos,
4. Algunos pueden ser usados poco tiempo después de la cosecha,
5. Varios actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto aunque a la larga no causen la muerte del insecto,

6. Debido a su acción estomacal y rápida degradación pueden ser más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con los enemigos naturales,
7. La mayoría de estos compuestos no causan fitotoxicidad,
8. Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos,
9. Su uso es sustentable,
10. Son biodegradables, y
11. Son relativamente seguros para el usuario y el medio ambiente.

El uso de plantas para combatir insectos continúa hoy en día en diversas regiones del mundo y muchas de estas especies han sido investigadas para evaluar *in vitro* su efecto insecticida.

Antecedentes

En países como México y varios países de Latinoamérica aún es común encontrar prácticas ancestrales contra plagas que se remontan al tiempo de los aztecas y mayas en las que los agricultores aún utilizan plantas como insecticidas, como es el caso de ají o chile (*Capsicum* sp.), estafiate (*Artemisia ludoviciana*), xoplitetl (*Trichilia havanensis*), chilcuage (*Heliopsis longipes*), hierba de la cucaracha (*Haplophytum cimidum*), cancerina (*Hippocratea excelsa*), chichicamole (*Microsechium helleri*) y hierba del perro (*Senecio ehrenbergianus*) entre otras (Rodríguez y Lagunes, 1992).

Sievers *et al.* (1949) reportaron 78 especies de plantas empleadas para combatir insectos en áreas tropicales, por ejemplo *Cnidocolus urens*, *Gliricida sepium*, *Hura crepitans*, *Mammea americana* y *Piscidia piscipula*, éstas mostraron efecto insecticida notable, siendo *Mammea americana* la que presentó mayor toxicidad ante insectos en pruebas con todos sus órganos; 30 especies mostraron toxicidad en una o más especies de insectos en pruebas con alguno de sus órganos y las 43 especies restantes no presentaron toxicidad alguna o bien el efecto de éstas fue bajo. Por otra parte, Secoy y Smith (1983) publicaron una lista de 653 especies de plantas que han sido usadas para el control de plagas en diferentes partes del mundo, por ejemplo los aceites de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) tienen un efecto insecticida y se utilizan en África, India y Sudamérica.

Berger (1994) reportó el uso de plantas para controlar plagas en tres países africanos, y las especies más ampliamente utilizadas son *Tephrosia vogelii* y *Ocimum basilicum* (Labiatae).

Pakrash y Rao (1997) en su libro “Botanical pesticides in agriculture”, reportaron 866 especies de plantas con algún efecto sobre plagas de insectos, por ejemplo *Artemisia absinthium* (Asteraceae), una planta perenne de regiones áridas y del Mediterráneo, cuyo extracto en agua muestra actividad insecticida, antialimentaria y repelente en el gorgojo del arroz, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera), en la polilla *Spodoptera cerealla* (Lepidoptera), y también contra la plaga de gusanos de la hoja de algodón *Spodoptera litura* (Lepidoptera).

Macêdo *et al.* (1997) hicieron extractos etanólicos de 83 especies de plantas de la familia Asteraceae y los probaron para detectar actividad larvica del mosquito *Aedes fluviatilis*. De estos extractos el de *Tagetes minuta* (Asteraceae) mostró mayor actividad con una LC₉₀ de 1.5 mg/l y LC₅₀ de 1 mg/l, seguida de *Eclipta paniculata* con una LC₉₀ de 17.2 mg/l y una LC₅₀ de 3.3 mg/l.

El Consortium for International Crop Protection (CICP) (1998) reportó 64 especies de plantas usadas para controlar y proteger cosechas en el Este de África en la región del Sub- Sahara. Después, Golob *et al.* (1999) publicaron una lista de más de 100 especies de plantas empleadas por los granjeros de diferentes países, principalmente africanos, para proteger a los granos almacenados del ataque de los insectos.

En México, Lagunes (1984) reportó que se probaron los extractos acuosos de 437 plantas pertenecientes a 86 familias, y los resultados indicaron que 41 especies de plantas pueden considerarse prometedoras para evaluaciones a nivel de campo. Contra el mosquito casero se probaron 389 plantas pertenecientes a 70 familias, se encontraron siete plantas prometedoras. En el caso de la conchuela del frijol (*Epilachna varivestis*) se probaron 16 plantas de 12 familias, resultaron prometedoras dos plantas. Contra el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) se probaron los polvos de 21 plantas y resultaron dos plantas prometedoras. Posteriormente Lagunes *et al.* (1987) reportaron 1169 plantas pertenecientes a 159 familias probadas para detectar efectos tóxicos en 112 especies de artrópodos.

Rodríguez y Lagunes (1992) probaron los extractos acuosos de 108 especies de plantas en 6 insectos: el gorgojo pardo del frijol (*Acanthoscelides obtectus*), el gorgojo común del maíz (*Sitophilus zeamais*), el barrenador mayor de los granos (*Prostephanus truncatus*), el gorgojo pinto del frijol (*Zabrotes subfasciatus*), el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*) y la conchuela del frijol (*Epilachna varivestis*), encontrando que el gusano cogollero del maíz fue susceptible a 61 extractos.

Metabolitos secundarios

Las plantas han evolucionado por más de 400 millones de años; y para contrarrestar el ataque de los insectos desarrollaron mecanismos químicos de protección con efectos repelente, antialimentario e insecticida (Anaya *et al.*, 2001),

como la producción y almacenamiento de una gran cantidad de compuestos o metabolitos. Paralelamente a los metabolitos primarios: aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos, ácidos carboxílicos, etc., y a través de las mismas o similares vías de biosíntesis, se originan otro tipo de compuestos que por sus características particulares y específicas se denominan compuestos o metabolitos secundarios (Anaya y Cruz, 2001).

Los compuestos secundarios se clasifican en compuestos nitrogenados (ejemplo: alcaloides y glicósidos cianogénicos), compuestos fenólicos y terpenos (Domínguez, 1979; Rhoades, 1979).

Aceites esenciales

Los terpenos particularmente son compuestos que están formados por la unión de dos o más unidades de isopreno. En este grupo se encuentran los aceites esenciales, que en su mayoría son mezclas de monoterpenos y de sesquiterpenos. Dentro de las familias de plantas más ricas en aceites esenciales están las Asteraceae, Labiatae, Mirtaceae, Pinaceae, Rosaceae, Rutaceae, y Apiaceae (Valencia, 1995). Estos aceites generalmente se hallan en regiones circunscritas de la planta, segregados por células ligeramente modificadas o estructuras especializadas como los tricomas glandulares, los conductos secretores especiales y las cavidades lisígenas o esquizógenas (Mabry y Gill, 1979).

En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos acíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, sustancias

azufradas y nitrogenadas. Los compuestos más frecuentes derivan biogénicamente del ácido mevalónico; se les cataloga como monoterpenoides (C₁₀) y sesquiterpenoides (C₁₅). Las propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales o esencias son muy diversas, puesto que el grupo engloba sustancias muy heterogéneas, de las que en la esencia de una planta, prácticamente puede encontrarse sólo una o más de 30 compuestos (Domínguez, 1979).

Respecto a su distribución, un aceite esencial puede localizarse en un determinado órgano vegetal, flores, hojas, frutos y hasta raíces o en toda la planta, y la composición puede ser igual o diferente entre especies, incluso entre la misma especie, ya que puede cambiar con la época de la recolección, el lugar geográfico o por pequeños cambios genéticos (Mckey, 1979; Miller, 1981). El método más antiguo y sencillo para obtener aceites esenciales es la destilación por arrastre de vapor, a partir del material vegetal, lo más fresco posible; en cuanto al rendimiento de esencia obtenido de una planta, varía de unas cuantas milésimas por ciento de peso vegetal hasta 1-3 % (Domínguez, 1979).

Muchos de estos aceites esenciales intervienen en la polinización pues sirven de atrayentes a insectos polinizadores; regulan la transpiración, otros son repelentes para los animales, preservando así a las plantas de la herbivoría (Balandrin *et al.*, 1985). Los productos derivados de plantas han sido usados extensamente como compuestos activos; ya que se ha encontrado que muchas mezclas crudas de aceites esenciales tienen actividad antifúngica, antimicrobiana, citotóxica e

insecticida (Francioz *et al.*, 1997). Algunos ejemplos de la actividad insecticida de los aceites esenciales de plantas se mencionan a continuación:

Regnault- Roger *et al.* (1993a) reportaron que en el suroeste de Francia los campesinos utilizan plantas para proteger los granos almacenados, probaron diez especies de plantas en el gorgojo pardo del frijol, *Acanthoscelides obtectus*, resultando con mayor actividad insecticida *Origanum serpyllum* (Labiatae). Por otra parte, Francioz *et al.* (1997) reportaron que los aceites esenciales extraídos de *Mentha pulegium* y *Mentha spicata* (Labiatae) mostraron una gran actividad insecticida en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, y sólo *M. spicata* mostró actividad mutagénica. También probaron los compuestos ya aislados de estas especies: pulegona, mentona y carvona, siendo la pulegona nueve veces más efectiva como insecticida que la mentona y carvona.

Isman (2000) hizo una revisión del rango de la actividad biológica de los aceites esenciales y sus constituyentes, su toxicidad y modo de acción en insectos, su potencial en la salud y el impacto en el medio ambiente como protector de granos y la comercialización de plaguicidas elaborados con base en diferentes aceites esenciales. Después, Isman *et al.* (2001) probaron la actividad insecticida de 21 aceites esenciales de plantas en el tercer estadio de larvas del gusano del tabaco, *Spodoptera litura* (Noctuidae); siendo los aceites esenciales de *Satureja hortensis*, *Thymus vulgaris* y *Origanum creticum* (Labiatae) los que produjeron una mortalidad mayor del 90 % en larvas de ese insecto a una dosis de 100 µg por larva, señalando

que el timol y el carvacrol, que son los componentes mayoritarios de los aceites de *Thymus* y *Satureja*, son los que proporcionaron la actividad insecticida a estas especies.

Choi *et al.* (2003) probaron la actividad insecticida de los aceites esenciales de 53 especies de plantas en huevos, ninfas y adultos de *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera), de los cuales 23 aceites esenciales produjeron más del 80 % de mortalidad en 24 horas en adultos y 25 aceites ocasionaron una mortalidad mayor del 80 % en larvas. Barreira *et al.* (2004) probaron los aceites esenciales de nueve plantas del noreste de Brasil sobre larvas de *Aedes aegypti* (Diptera), teniendo como resultado que los aceites de *Ocimum americanum* y *Ocimum gratissimum* (Labiatae) mostraron una mayor actividad larvicida con una LC_{50} de 67 y 60 ppm respectivamente.

Lee (2004) reportó actividad acaricida de los componentes derivados de los aceites esenciales del aceite del fruto de *Foeniculum vulgare* en *Dermatophagoides faringe* (Acari) los principios activos fueron p- anisaldehído, (+)- fencona, y (-)- fencona. Mientras que en Francia, Regnault- Roger y Hamraoui (1993a) evaluaron el efecto insecticida de 9 aceites esenciales de plantas en *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera), siendo los de *Mentha piperita* (Labiatae) los que mostraron el mayor efecto. Simultáneamente, Regnault- Roger y Hamraoui (1993b) probaron 22 aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales en *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera) teniendo como resultado que los aceites esenciales de *Thymus serpyllum* y *Origanum mejorana* (Labiatae) fueron los más tóxicos.

En México, se han realizado muy pocos estudios sobre el efecto insecticida de los aceites esenciales de plantas. Y en lo que respecta a Hidalgo, en el Laboratorio de Etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEH, se está llevando a cabo un proyecto que cuenta entre sus objetivos con hacer el inventario de las plantas útiles de la entidad, a la fecha en ese proyecto Pérez-Escandón *et al.* (2003) han detectado 611 especies de plantas que utilizan con diferentes fines los habitantes del estado, en orden de importancia, en cuanto al número de especies en primer lugar están las plantas medicinales, luego las comestibles, después las ornamentales y en cuarto lugar se encuentran las plantas de uso plaguicida; en esta última categoría se llevan registradas 73 especies de plantas empleadas para combatir diversas plagas, principalmente de insectos.

Otro de los objetivos del citado proyecto es corroborar mediante pruebas de laboratorio, la actividad insecticida de extractos y sustancias obtenidas de especies de plantas seleccionadas de entre las 73 que se utilizan en el estado para combatir plagas por lo que para realizar la presente investigación se seleccionaron las siguientes cinco especies de plantas: *Tagetes erecta*, *Parthenium hysterophorus*, *Zaluzania triloba*, *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* (Asteraceae) y *Liquidambar macrophylla* (Hamamelidaceae). Estas especies se seleccionaron considerando que se emplean para combatir insectos, que todas son aromáticas y que no se encontraron antecedentes acerca de la evaluación del efecto insecticida de los compuestos volátiles responsables del aroma de estas plantas.

A continuación se presenta información acerca de cada una de estas cinco especies de plantas para lo cual se elaboró una ficha por especie en la que se incluyó el nombre de la familia botánica a la que pertenece, nombre científico, nombre (s) común (es), descripción botánica, origen, hábitat, distribución en Hidalgo, descripción del uso insecticida en la entidad, otros usos, composición química, farmacología y una fotografía de la planta en cuestión; los datos fueron tomados de la literatura.

Familia: Asteraceae

Nombre científico: *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* (Willd.) Keck (Figura 1)

Nombre común: Estafiate



Figura 1. *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*

Otros nombres comunes: ajeno del país, istafiate (Martínez, 1990; Aguilar *et al.*, 1994); estafiate, istafiat (nahua), mephi (otomí) (Martínez *et al.*, 1995) iztauhyatl (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Planta herbácea anual o perenne, aromática al estrujarse, de 80 cm de alto, tallos generalmente varios a muchos a partir de una base rizomatosa, estriados, flocoso-tomentosos, con la edad glabros; hojas hasta de 15 cm de largo, enteras y lineares a lanceoladas, elípticas u obovadas, a profundamente divididas bicolors, de color

verde claro el haz y blanquecino el envés; cabezuelas a menudo péndulas, agrupadas en panículas o racimos foliosos; involucro campanulado, sus brácteas de 6 a 16 de 3 a 4 mm de largo, más o menos tomentosas por fuera; receptáculo hemisférico; flores periféricas 5 a 12, sus corolas angostamente cilíndricas, de 1 a 1.5 mm de largo; flores del disco 6 a 15, sus corolas tubulosas o con la garganta campanulada; de \pm 2 mm de largo; aquenios cilíndricos, de \pm 1 mm de largo, glabros (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Es originaria de Estados Unidos de América, México y Guatemala. Habita en climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados, desde el nivel del mar hasta los 2900 msnm. Cultivada en huertos familiares, crece a orillas de caminos, en terrenos de cultivo abandonados y es común en vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolio, subperennifolio y perennifolio, bosque espinoso, matorral xerófilo, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino, mixto de pino- encino y de *Juniperus* (Argueta, 1994).

En Hidalgo se encuentra en los municipios de Actopan, Pachuca, Tepeapulco, Epazoyucan, Omitlán y Huichapan (Pérez-Escandón *et al.*, 2003).

Su uso como insecticida en Hidalgo

En Huichapan, las ramas se secan y se muelen, el polvo obtenido se mezcla con el maíz para evitar que se agorroje (Pérez-Escandón *et al.*, 2003).

Su uso como insecticida en otros estados

Lagunes (1984) reportó que en la región de Ixtapan de la Sal, Estado de México, es costumbre intercalar plantas secas de *Artemisia ludoviciana* entre costales de maíz para evitar el daño del gorgojo *Sitophilus zeamais*.

Evaluación

Martínez *et al.* (1990) reportaron que los extractos de *Artemisia ludoviciana* probados en macerado e infusión al 5 % provocan el 78.6 % de mortalidad y 71.5 % de mortalidad en infusión en larvas del primer estadio de la conchuela del frijol (*Epilachna varivestis*).

Otros usos

El estafiate es una especie ampliamente utilizada en ceremonias, fiestas religiosas y como medicinal. A nivel nacional, ya que se usa para el dolor de estómago, cólicos estomacales o intestinales, dolor e inflamación en la boca del estómago; en problemas menstruales, como abortivo, durante el puerperio, en baños postparto; se emplea para las anginas, bronquitis, catarros, resfríos, tos, tosferina; para el reumatismo; corrige la digestión, para el estreñimiento, gastritis, gastroenteritis, indigestión; para la vesícula, esterilidad femenina, para curar heridas, para granos, circulación de sangre, corazón, hemorroides, riñones, diabetes, dolor de oído; dolor de cabeza, mareos, retraso menstrual y dolor de ciática (Argueta, 1994; Martínez *et al.*, 1995).

Composición química

Las especies pertenecientes a este género, además de ser ricas en monoterpenos a lo que deben su olor fuerte y con frecuencia agradable, son también productoras de sesquiterpenos, los que pueden ser del tipo del guayano o del eudesmano (Romo de Vivar, 1985). Contiene esencia y santonina la cual se encuentra en las inflorescencias, además de alfa y beta belandrenos, limoneno, alcanfor y borneol; estafiatina, tiene una eudesmanolida, a la que se denominó artemexifolina, además de tulipenolida y arglanina, los monoterpenos le dan su olor característico. El isomero en C-1 de la santamarina, llamado duglanina, además otra eudesmanilida a la que se le dio el nombre de ludalvina (Romo de Vivar, 1985).

Contiene también 8-alfa-acetoxiarmexifolina, armefolina y alfa-epoxiludalbina, artemexifolina y santamarina (Martínez *et al.*, 1995); además de los monoterpenos alfa- y beta-belandrenos, car-3-ene, alfa-pineno y crisantemol; los sesquiterpenos óxidos de artedouglasia A, B, C y D; en las partes aéreas de la planta se encontraron monoterpenos, el 7-hidroxi-borneol, alcanfor y trans-crisantenol, sesquiterpenos, achilín, ácido eremofil-9-11-dien-12-oico, alfa-peróxido de tanapartín, tanapartólido B y ludovicinas A, B y C, douglanina y el ácido 8-alfa-acetóxi-iso-cóstico; flavonoides, buteín, iso-liquiritigenín, quercetina e iso-ramnetín y cumarinas, la cumarina y dos de sus derivados además de lacarol y escopoletina (Argueta, 1994).

La raíz contiene el monoterpeno, cetona de artemisia, dos compuestos azufrados y tres alquinos; y en la flor se han detectado los sesquiterpenos antemidín y armexifolina (Martínez, 1990; Argueta, 1994; Martínez *et al.*, 1995).

Farmacología

Se han realizado muy pocos estudios relacionados con la actividad biológica de esta especie. Se han investigado los posibles efectos diuréticos de la infusión de las hojas. También se evaluó el extracto etanólico de las ramas sobre las bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella gallinarum*, *Staphylococcus aureus* y los hongos *Mycobacterium smegmatis* y *Candida albicans*, encontrando ausencia de actividad (Argueta, 1994).

Familia: Asteraceae

Nombre científico: *Parthenium hysterophorus* L. (Figura 2)

Nombre común: Chilchayate



Figura 2. *Parthenium hysterophorus*

Otros nombres comunes: confitillo, hierba amarga (Martínez, 1990), chucuyate, escoba amargosa, escobilla, sunia papalsni (tepehua) (Martínez *et al.*, 1995), altamisa (Chiapas, Quintana Roo, Yucatán), amargoso (San Luis Potosí, Tamaulipas), chochoyatl (Veracruz) (Del Amo, 1979), confitillo (Estado de México), hierba del burro (Sinaloa) (Aguilar *et al.*, 1998), Chamisa (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Planta anual, erecta, hasta de 1 m de alto; tallos por lo general ramificados, estriados, estrigosos, ocasionalmente también con algunos pelos largos

entremezclados; hojas hasta de 20 cm de largo, pinnada o bipinnadamente divididas en segmentos lineares o lanceolados, por lo general subagudos en el ápice, pubescencia similar a la de los tallos; cabezuelas dispuestas en panículas cimosas por lo general laxas y muy ramificadas, que sobresalen notablemente del follaje; involucro anchamente campanulado, de 2 a 3 mm de largo, sus brácteas exteriores 5, elíptico-ovadas o elíptico-obovadas, pubescentes en el ápice, persistentes, las brácteas interiores 5, suborbiculares, glabras, cayendo con los aquenios; receptáculo hemisférico, páleas de 1.5 mm de largo, ensanchadas y pubescentes en el ápice; flores liguladas con las láminas diminutas, de menos de 1 mm de largo, truncadas a emarginadas en el ápice; aquenio oblanceolado o obovado, de 2 mm de largo, negruzco, glabro o pubérulo, vilano de 2 escamas petaloides de 5 a 7 mm de largo; flores del disco alrededor de 60, sus corolas de 1.5 mm de largo, angostamente infundibuliformes, glabras (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Especie originaria de América tropical. Presente en sitios con clima cálido y semicálido desde el nivel del mar hasta los 2650 m. Crece a orillas de caminos, asociada a bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio y perennifolio (Argueta, 1994).

En Hidalgo crece como una especie ruderal; se localiza a lo largo de caminos, en terrenos baldíos y en las orillas de los campos de maíz en Atlapexco, Calnali, Huautla, Huejutla, Huazalingo, Huehuetla, Jacala, Jaltocán, La Misión, Orizatlán, Tepehuacán y Yahualica (Villavicencio *et al.*, 2002)

Su uso como insecticida en Hidalgo

En Orizatlán, Jaltocán, Huejutla, Atlapexco y Yahualica la planta completa se restriega en agua y el líquido resultante se utiliza para regar patios y habitaciones donde haya pulgas a fin de eliminarlas o se hacen escobas para barrer lugares infestados con estos insectos (Villavicencio *et al.*, 2002).

Su uso como insecticida en otros estados

Del Amo (1979) reportó que en Veracruz los extractos acuosos de las hojas de *Parthenium hysterophorus* se aplican localmente en aves de corral para eliminar ectoparásitos.

Evaluación

González y Róvalo (1984) encontraron que los extractos y aceites de la barreta, *Helietta parvifolia* y *Parthenium hysterophorus*, son efectivos en el control de los gorgojos de granos almacenados. Villavicencio y Pérez-Escandón (1993) encontraron que el extracto etanólico de *P. hysterophorus*, resultó activo en ensayos como antialimentarios en *Sitophilus zeamais*. Y Aguilar *et al.* (2000) probaron extractos de *P. hysterophorus* en perros con escabiosis, padecimiento causado por ácaros del género *Sarcoptes*, y encontraron una disminución de las lesiones.

Otros usos

Esta especie tiene un amplio uso medicinal en padecimientos digestivos, bilis, dolor de estómago y empacho; también se emplea para infecciones cutáneas, granos, ronchas, herpes, sarna, lepra y caída del cabello; para la calentura, crisis

convulsivas; para el reumatismo, la diabetes, contra el paludismo y la rabia (Argueta, 1994).

Composición química

Casi todas las especies de este género contienen lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de pseudoguayano (Romo de Vivar, 1985). El análisis de la planta completa, ha revelado la presencia de partenina y ácido parténico, e hidrocarburos análogos a la dextrina (Martínez, 1990; Aguilar *et al.*, 1998).

Farmacología

Se indica en la literatura que el extracto hidroalcohólico de la planta tiene propiedades analgésicas, éste se emplea en dolores de cabeza y estómago (Argueta, 1994).

Familia: Asteraceae

Nombre científico: *Tagetes erecta* L. (Figura 3)

Nombre común: Cempasúchitl



Figura 3. *Tagetes erecta*

Otros nombres comunes: cempasúchil (Estado de México, Oaxaca), cempoal (Zacatecas), chant (tepehua, Puebla), flor de muerto (Chiapas, Edo. de México, Puebla, Tlaxcala, San Luis Potosí, Sinaloa y Veracruz), kyalhpuxan (totonaca, Puebla), tateni (otomi, Puebla), nichim anima, potzemnichim tusas (tzeltal, Chiapas), zempoalxichitl (Veracruz) (Aguilar *et al.*, 1994).

Planta anual, erecta, alcanza hasta 1.2 m de alto, muy aromática al estrujarse; tallos estriados glabros o pubescentes; hojas hasta de 20 cm de largo, pinnadas, foliolos 11 a 17, lanceolados a linear-lanceolados, de 5 cm de largo por 1.5 cm de ancho, agudos a acuminados, aserrados a subenteros; cabezuelas solitarias o agrupadas

por varias, sobre pedúnculos hasta de 15 cm de largo, provistos de brácteas pinnadas con segmentos cerdiformes en el ápice; involucro campanulado, de 13 a 20 mm de alto, de 9 a 25 mm de ancho, sus brácteas 5 a 11, glabras, sus ápices triangulares; flores liguladas 5 a 8 o más frecuentemente numerosas, amarillas a anaranjadas, sus láminas ablancazadas a obovadas, de 1 a 2 cm de largo, flores del disco 150 a 250 en las cabezuelas sencillas, pero en las “dobles” mostrando diferente grado de transformación en lígulas, sus corolas amarillas a anaranjadas, de 8 a 10 mm de largo; aquenios lineares, de 7 a 10 mm de largo, glabros o hispídulos en los ángulos, vilano de 1 ó 2 escamas acuminadas de 6 a 12 mm de largo y 2 ó 3 escamas romas de 3 a 6 mm de largo, más o menos unidas entre sí. Existen muchas razas seleccionadas que difieren más que nada en el tamaño y el color de las cabezuelas (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Es originaria de México y habita en climas cálidos, semicálidos, secos y templados; desde el nivel del mar hasta los 3900 msnm. Adaptada a distintos hábitats, cultivada en huertos, crece en milpas o zonas urbanas, asociada a distintos tipos de vegetación como bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio, matorral xerófilo y bosque espinoso, mesófilo de montaña, de encino, de pino y mixto de pino-encino (Argueta, 1994.)

En Hidalgo se encuentra escapada de cultivo en los municipios de la Huasteca y Sierra de Hidalgo y cultivada en todo el estado (Pérez-Escandón *et al.*, 2003).

Su uso como insecticida en Hidalgo

En San Bartolo Tutotepec, se siembra entre los cultivos de maíz, *Zea mays*, y de frijol, *Phaseolus* sp. para alejar plagas de insectos. En Huichapan, las ramas se secan, se muelen y el polvo obtenido se mezcla con el maíz ya sea en grano o mazorca para evitar que se agorroje al estar almacenado, los informantes afirmaron que el maíz que recibe este tratamiento germina sin problema una vez que es sembrado, además de que puede ser utilizado para la alimentación humana o de animales domésticos.

Su uso como insecticida en otros estados

Correa *et al.* (1993) probaron polvos vegetales de 10 especies de plantas incluyendo a *Tagetes erecta* y los aplicaron en maíz infestado de *Sitophilus zeamais* y se encontró que todos los polvos vegetales causaron mortalidades entre el 1.25 y 63.75 %, pero *Myroxylon balsamum* y *Tagetes erecta* ocasionaron la mortalidad más alta con 52.9 y 31.2 % respectivamente.

Otros usos

El cempasúchil es una especie muy empleada en distintas partes de la República Mexicana. Se usa como ornamental, en ceremonias religiosas y principalmente como medicinal para el dolor de estómago, la diarrea, los cólicos, enfriamiento estomacal, afecciones hepáticas, bilis, vómitos, indigestión, baba de los niños, para hacer algunos lavados intestinales y contra los parásitos. Además se utiliza para catarro, gripe, bronquitis, frialdad del pulmón y mormado de los niños; desinflamación del vientre, cólicos menstruales, para baños postparto, para que baje la leche y como abortiva. También se utiliza para aliviar el salpullido, llagas, verrugas; para el

insomnio, epilepsia; diabetes, reumatismo, dolor de oídos, dolor de cabeza, cáncer, hidropesía y como antipalúdica (Martínez, 1990; Argueta, 1994).

Composición química

Contiene aceites esenciales en los que se han identificado los monoterpenos geraniol, limoneno, linalol, mentol, ocimeno, beta-felandreno, dipenteno, alfa- y beta-pineno y tagetona, y los flavonoides quercetagina, comferitrín, camferol y su ramnósido. Las flores y los pétalos son ricos en carotenoides de los que se han identificado la luteína, xantofila y cinco ésteres de ambos componentes con ácidos grasos de 10, 16 y 18 carbonos; así como piretrinas (Martínez, 1990; Argueta, 1994; Martínez *et al.*, 1995).

Farmacología

El aceite esencial obtenido de hojas y tallos del cempasúchil presenta actividad antibiótica contra las bacterias *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*, y los hongos *Candida albicans*, *Candida utilis*, varias especies de *Aspergillus*, incluyendo el *A. niger* y *Trichoderma viridae*. El jugo obtenido de las hojas ejerció un efecto cronotrópico e inotrópico positivo en corazón aislado de rana. Del mismo modo un extracto etanólico de las hojas produjo una actividad estimulante del músculo liso en íleon y útero de cuyo, así como el yeyuno de conejo; y un extracto etanólico de las flores administrado por vía intravenosa, provocó una actividad colerética (Argueta, 1994).

Familia: Asteraceae

Nombre científico: *Zaluzania triloba* (Ort.) Pers. (Figura 4)

Nombre común: Jediondilla

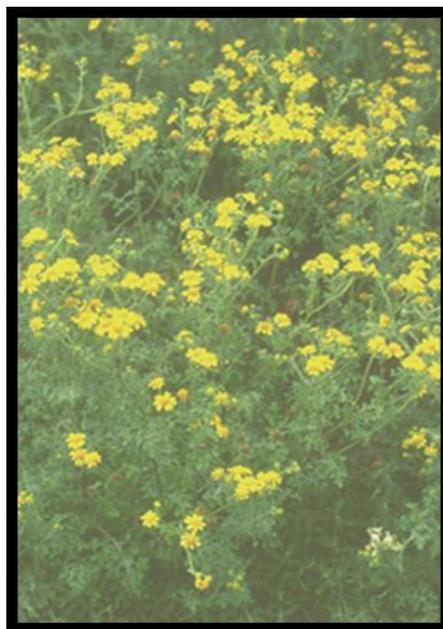


Figura 4. *Zaluzania triloba*

Planta herbácea perenne hasta de 1 m de alto, erecta, aromática al estrujarse; tallos ramificados, estriados, hispídeos a hirsutos o pubérulos con pelos hasta de 1 mm de largo, a menudo también con pubescencia glandulosa diminuta; hojas pecioladas, el limbo hasta de 15 cm de largo, en contorno general más o menos triangular-ovado, profundamente bipinnatífido, los segmentos anchamente oblongos u ovados, por lo común redondeados en el ápice, a veces más o menos lobados, hispídeo-estrigulosos en ambas caras, cabezuelas agrupadas por varias hacia los extremos de las ramas, sobre pedúnculos hasta de 6 cm de largo; involucreo subhemisférico, sus brácteas exteriores ± 8 , herbáceas, lanceolado-oblongas, de 4 a 5 mm de largo, hispídas en el envés, las interiores mucho más cortas, parecidas a las páleas; éstas

de 2 a 3 mm de largo obovadas, truncado-obtusas en el ápice; flores periféricas ± 8 , sus lígulas amarillas, oblongas, de 6 a 10 mm de largo, pubescentes en el envés; flores de disco ± 80 , sus corolas amarillas, de 2 a 2.5 mm de largo, glandulosas en la parte tubular, pubescentes más arriba; aquenios negruzcos o cafés oscuros, de 2 mm de largo los del disco glabros y sin vilano, los del radio más o menos pubescentes y con una corona de pelos en el ápice (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

En Hidalgo por lo general crece en lugares perturbados en Actopan, Cardonal, Epazoyucan, Ixmiquilpan, Mineral de la Reforma, Tizayuca y Zempoala (Pérez-Escandón *et al.*, 2003).

Su uso como insecticida en Hidalgo

En Singuilucan, el extracto acuoso de las ramas de esta planta se aplica en las heridas del ganado infestado de larvas de gusano barrenador, para eliminarlas.

Composición química

El género *Zaluzania* se caracteriza por producir guayanólidas y eudesmanólidas, que son lactonas sesquiterpénicas, se aislaron dos guayanólidas, las zaluzaninas C y D, además de la eudesmanólida ivalina; la raíz contiene una lactona (Romo de Vivar, 1985).

Familia: Hamamelidaceae

Nombre científico: *Liquidambar macrophylla* Oerst. (Figura 5)

Nombre común: Somerio



Figura 5. Follaje y frutos de *Liquidambar macrophylla*.

Otros nombres comunes: ocozote, nite biito en lengua zapoteca (Oaxaca) (Martínez, 1990), suchiate (Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Árbol de 20 a 40 m de altura, hojas anchas de color verde brillante que cambia con las estaciones a amarillo, rojizo y café, de aproximadamente 10 cm de largo por 11 o 12 de ancho, con cinco lóbulos muy marcados; flores masculinas en una inflorescencia algo alargado, las flores femeninas en una inflorescencia globosa que se convierte en un fruto agregado también globoso de unos 4 cm de diámetro. Florece de enero a marzo (Villavicencio *et al.*, 2002).

Especie nativa, habita en clima semicálido y templado entre los 700 y los 900 msnm, asociado a bosque mesófilo de montaña (Argueta, 1994).

En Hidalgo se encuentra en bosque mesófilo de montaña en Zacualtipán, Molango, Tepehuacán, Xochicoatlán, Calnali, Yahualica, La Misión, Tenango de Doria y San Bartolo Tutotepec (Villavicencio *et al.*, 2002).

Su uso como insecticida en Hidalgo

En San Bartolo Tutotepec, las ramas se emplean para hacer nidos de gallinas con el fin de eliminar gorpitos, las astillas del tronco se queman en el interior de las casas para matar a los chahuistles (ácaros) que se producen en los nidos de golondrinas y otras aves ya que estos ectoparásitos también afectan a las personas.

Su uso como insecticida en otros estados

Argueta (1994) reportó que los médicos mayas usaban el liquidámbar para tratar la lepra y para proteger la piel contra la picadura de insectos.

Otros usos

Esta especie se usa como maderable, para elaborar instrumentos de trabajo, en ceremonias religiosas, como ornamental y medicinal para sanar heridas, tratar la caries, como astringente; para vaporizaciones e infusiones. Se le atribuyen propiedades estimulantes, estomacales, sudoríficas y pectorales; también diuréticas y antigonorreicas (Martínez, 1990; Argueta, 1994; Villavicencio *et al.*, 2002).

Composición química

De las hojas de *Liquidambar macrophylla* se extrae un aceite esencial en el que se han detectado los monoterpenos borneol, delta-cadineno, alfa y delta-cadinol, cadinol T, camfeno, para- cimenol, para-cimeno, alcohol fenhílico, limoneno, linalol, su óxido, 2- ment-2-en-1-ol; mirceno, beta-ocimeno, perileno, alfa y beta-felandreno, alfa y beta-pineno, cis y trans-piperitol, sabineno, hidrato de cis-sabineno, terpin-1-en-4-ol, terpin-4-ol, alfa y gama- terpineno, alfa-terpineol, alfa-terpinoleno, alfa-terpineol, alfa-tuyeno; los sesquiterpenos alo-aromandreno, alo-aromandrenoreno, beta-bourboneno, gama-cadineno, calacoreno, calameneno, beta-cariofileno, alfa-copaeno, beta-cubebeno, cubenol, elenol, germacreno D, humuleno, murrallol T, valeranal, valeranona y vitispirano, y el policiclo antraceno, y los alcaloides colina y acetil- colina (Argueta, 1994).

Del tronco se obtiene un aceite, el bálsamo en el que se han identificado los monoterpenos borneol y su acetato y los compuestos fenílicos ácidos cinámico, alcohol gama fenilpropílico, estireno y vainillina. La corteza y el durámen del tronco contienen los componentes fenílicos ácidos elágico y gálico. La savia del tronco contiene el flavonoide taxifolín y la cumarina ácido elágico; y el polen, el flavonoide glucosil-galactósido de quercetín (Argueta, 1994).

Farmacología

Se ha descrito en la literatura que el extracto acuoso de las hojas ejerce una acción carcinogénica en rata hembra y macho administrado por vía subcutánea a la dosis de 8 mg/kg (Argueta, 1994).

Justificación

Ante la necesidad de contar con nuevos productos insecticidas, efectivos en especies de insectos, no contaminantes, biodegradables, no tóxicos para los seres humanos y otras formas de vida, baratos y disponibles, las plantas se presentan como una fuente potencial de productos con estas características. Se ha sugerido que en la búsqueda de productos vegetales bioactivos, una posibilidad es la selección de especies de plantas con uso tradicional, ya que se considera más probable la detección de la bioactividad (Schultes y von Reis, 1997).

En este contexto, las plantas que utilizan los habitantes del estado de Hidalgo para combatir plagas, especialmente de insectos, ofrecen amplias posibilidades para el hallazgo de insecticidas de origen vegetal. Por esto se decidió llevar a cabo el presente estudio, para lo cual se seleccionaron cinco de las plantas que se emplean en el estado para el control de insectos, estas especies, son las siguientes: *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, *P. hysterothorus*, *T. erecta*, *Z. triloba* y *L. macrophylla*. Para evaluar el efecto insecticida de los aceites esenciales de las plantas seleccionadas se escogieron dos especies de insectos: *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) y *Sitophilus zeamais* (gorgojo del maíz). El uso de *D. melanogaster* tiene varias ventajas como la corta duración de su ciclo de vida (ya que dura de 10 a 12 días a 25 °C), la distinción clara entre cada una de las fases de su ciclo de vida, la gran cantidad de descendencia que produce una sola pareja, y también el hecho de que su mantenimiento requiere poco espacio y es de costo reducido (Ramos *et al.*, 1993). En el caso de *S. zeamais* se seleccionó por que es

una de las 30 especies de insectos que atacan a los granos almacenados y a sus productos, causando graves pérdidas económicas (Román, 1990).

Hipótesis

Si estas especies de plantas aromáticas son utilizadas tradicionalmente en Hidalgo para combatir insectos, entonces sus aceites esenciales presentarán actividad insecticida en pruebas *in vitro* con *D. melanogaster* y *S. zeamais*.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la actividad insecticida de los aceites esenciales de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, *P. hysterophorus*, *T. erecta*, *Z. triloba* y *L. macrophylla* en *D. melanogaster* y *S. zeamais* así como avanzar en la separación e identificación de los componentes mayoritarios de sus aceites.

Objetivos particulares

- Avanzar en la separación e identificación de los componentes mayoritarios de los aceites esenciales.
- Evaluar *in vitro* la actividad insecticida de los aceites esenciales de las cinco especies seleccionadas en *D. melanogaster*.
- Evaluar *in vitro* la actividad insecticida de los aceites esenciales de las cinco especies seleccionadas en *S. zeamais*.
- Evaluar el efecto insecticida en *D. melanogaster* de los aceites esenciales de los órganos vegetales de las cinco especies de plantas.

Metodología

Revisión bibliográfica

Se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva acerca de las cinco especies de plantas seleccionadas incluyendo características generales, descripción botánica, ecología, otros usos, composición química y farmacología.

Colecta de las plantas

En las localidades donde las plantas poseen un uso como insecticida, se colectaron muestras de las especies de plantas por triplicado de las especies seleccionadas, los ejemplares se herborizaron e identificaron con las claves correspondientes (Standley, 1920-1926; McVaugh, 1984; Rzedowski y Rzedowski, 2001).

Artemisia ludoviciana spp. *mexicana* se colectó en Huichapan; *P. hysterophorus* en Atlapexco, *T. erecta* en San Bartolo Tutotepec; *Z. triloba* en Pachuca y *L. macrophylla* en San Bartolo Tutotepec. Un tanto de los ejemplares se depositó en el herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

De cada especie, también se colectaron de 0.5 a 2.0 kg de muestra para extraer aceites esenciales, de las tres primeras especies mencionadas se colectaron plantas completas, con raíz, tallo, hojas y flores, debido a que son hierbas; mientras que de

las dos últimas especies vegetales solo se colectó la parte aérea con tallos, hojas, flores y/o frutos, ya que una es un arbusto y la otra es un árbol.

Extracción de aceites esenciales

De las muestras vegetales completas y de la parte aérea

Los aceites esenciales se extrajeron mediante destilación por arrastre de vapor (Domínguez, 1979). Para lo cual se utilizaron 0.5 a 2 kg de muestras frescas de plantas completas de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, *P. hysterophorus* y *T. erecta* y de muestras frescas de la parte aérea de *Z. triloba* y *L. macrophylla*.

El destilado se extrajo con tres porciones de éter etílico en un embudo de separación, la fase etérea se secó con 40 gr. de sulfato de sodio anhidro, el cual se separó por filtración, luego el éter se evaporó a presión reducida en un rotavapor Büichi, el residuo, constituido por los aceites esenciales, se pesó y almacenó en viales a 0 °C que se utilizaron en los bioensayos respectivos. A los aceites que se obtuvieron con este tipo de muestras vegetales se les denominó aceites totales.

De los órganos vegetales

De una parte de las muestras vegetales frescas se separaron los diferentes órganos vegetales: raíces, tallos, hojas, flores y/o frutos, luego de cada órgano (0.5 kg) se extrajeron los aceites esenciales siguiendo el mismo procedimiento.

Cada muestra de aceites esenciales se probó en *D. melanogaster* para determinar si estas sustancias y su posible efecto insecticida se encuentran en algún órgano vegetal. Estas pruebas, no se realizaron con *S. zeamais* debido a la escasez de aceites esenciales de los órganos.

Cromatografía de gases (CG/EM) de los aceites esenciales

Para avanzar en la identificación de los compuestos activos, los aceites totales de las cinco especies seleccionadas fueron inyectados en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas con las siguientes características: cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard, modelo 5890 series II, bajo las siguientes condiciones de trabajo: columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m de largo por 0.25 mm de diámetro interno por 0.25 μm de espesor de la fase estacionaria y como fase móvil se utilizó gas helio con flujo de 1.0 ml/min, temperatura del inyector a 250 °C. Se empleó un gradiente de temperatura, siendo la temperatura inicial de la columna de 70 °C y sostenida por 2 minutos, seguida de un incremento de 10 °C/min, hasta 210 °C mantenida esta última temperatura por 4 minutos. El espectrómetro de masas empleado es de la marca Hewlett Packard, modelo 5890 A, con una energía de ionización de 70 eV, utilizándose la técnica de ionización por impacto electrónico.

Se obtuvieron los cromatogramas y el contenido porcentual de cada componente, después, se hizo la identificación de los componentes mayoritarios de cada cromatograma mediante la obtención del espectro de masas y su comparación con la biblioteca del equipo.

Cultivo de *Drosophila melanogaster* (Canton-S)

En el estudio se utilizaron adultos de *D. melanogaster* cepa silvestre Canton-S donada por el M. en C. Juan Carlos Gaytán Oyarzún del laboratorio de Genética del Centro de Investigaciones Biológicas de Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Este insecto se mantuvo en frascos con medio de cultivo preparado como sigue: en un recipiente se mezclaron 79 gr de harina (Minsa), 44 gr de levadura en polvo, 46.6 gr de azúcar, 10 gr de carragenina y 1250 ml de agua, la mezcla se calentó hasta disolver los ingredientes, luego se añadió 1.5 ml de nipagin y 1.5 ml de ácido propiónico, después este medio se vertió en frascos esterilizados en la estufa a 150 °C por 30 minutos. Una vez que el medio se enfrió y solidificó, se sembró con adultos de *D. melanogaster* (Ramos, 1993), que se aparearon y ovipositaron en el medio, los adultos que emergieron, de 2 a 5 días de edad, fueron los que se usaron en las pruebas (Figura 6) .



Figura 6. Cultivo de *Drosophila melanogaster* en el Laboratorio de Etnobotánica

Cultivo de *Sitophilus zeamais* Mots.

En el estudio también se empleó *S. zeamais*; este insecto se mantiene en cultivo en el Laboratorio de Etnobotánica del Centro de Investigaciones Biológicas, para lo cual se utilizan granos de maíz pozolero que se coloca en frascos de vidrio de dos litros que luego se infestan con adultos de este insecto tomados del mismo cultivo, cada frasco se mantiene durante unos 60 días y luego se deshecha (Figura 7). Los adultos de este insecto, de aproximadamente una semana de emergidos, fueron los que se emplearon en las pruebas respectivas.



Figura 7. Cultivo de *Sitophilus zeamais* en el Laboratorio de Etnobotánica

Actividad insecticida de los aceites esenciales

Para evaluar la actividad insecticida de los aceites esenciales de las especies estudiadas se hicieron bioensayos con *D. melanogaster* y con *S. zeamais*.

Bioensayos con *Drosophila melanogaster* cepa silvestre Canton-S

En este bioensayo se usaron adultos de *D. melanogaster* cepa silvestre Canton-S de dos a cinco días de edad, sin sexar.

Para hacer cada prueba los adultos de *D. melanogaster* se anestesiaron con éter etílico, para esto se colocaron unas gotas del disolvente en un trozo de algodón que se introdujo a un frasco al que se le habían transferido a los insectos, una vez anestesiados y con ayuda de un pincel, se colocaron cuatro insectos en un tubo de ensayo de 7.4 cm de longitud al que se le puso un tapón de hule espuma; uno o dos minutos después, las moscas se recuperaron de la anestesia.

Posteriormente se tomó una alícuota de los aceites esenciales con un capilar con la punta alargada y previamente tarado, la alícuota se pesó en una balanza analítica Chyo JL- 200, después la alícuota se colocó en el extremo de una tira de papel filtro de 6.5 cm de largo por 0.5 cm de ancho, para cada aceite se pesaron cinco cantidades, de 0.2 a 1.0 mg, una vez colocadas las muestras, las tiras de papel filtro se introdujeron a los tubos de ensayo, en cuyo interior se volatilizaron los aceites.

Así, cada prueba se realizó con cinco concentraciones de aceite: 0.053, 0.079, 0.105, 0.131 y 0.263 mg/cm³; cada concentración se ensayó por triplicado; también se prepararon tubos testigo en los que no se emplearon aceites. Inmediatamente después que las tiras de papel se introdujeron a los tubos, los insectos se empezaron a observar y con un cronómetro se determinó el tiempo al cual se produjo la caída repentina o efecto “knock down” y al cabo de 20 minutos se cuantificó el número de insectos muertos. Con el número promedio de insectos muertos por tratamiento se obtuvo el porcentaje de mortalidad producida con la fórmula:

$$\text{Mortalidad \%} = (m)(100)/T$$

Donde m fue el número promedio de insectos muertos y T el número total de insectos expuestos a cada concentración de aceites. También, con el número promedio de insectos muertos se obtuvo el valor de la concentración letal cincuenta, CL₅₀, con el método probit del programa SPSS 12.0; la CL₅₀ se define como la concentración de aceites esenciales a la cual murió el 50 % de los insectos expuestos. Los bioensayos con *D. melanogaster* se hicieron con aceites esenciales totales y también con los aceites obtenidos de cada órgano vegetal.

Bioensayo con *Sitophilus zeamais*

En cada prueba se usaron adultos de *S. zeamais* de dos a tres semanas de haber emergido. Para evaluar el efecto insecticida se procedió a pesar cinco cantidades, de 0.5 a 4 mg, los cuales se volatilizaron en el interior del tubo de

ensaye, así cada prueba se realizó en cinco concentraciones de aceite: 0.132, 0.263, 0.526, 0.790 y 1.05 mg/cm³; cada concentración se ensayó por triplicado; también se prepararon tubos testigo a los que el papel filtro se introdujo sin aceites, en cuanto a lo demás se procedió de la misma manera que con *D. melanogaster*. Los bioensayos con *S. zeamais* sólo se hicieron con los aceites esenciales totales, esto debido a la escasez de aceites esenciales de los diferentes órganos vegetales.

Análisis estadísticos

Se determinaron los porcentajes de mortalidad, los porcentajes de 0 se transformaron con la fórmula $\frac{1}{4} n$ propuesta por Snedecor y Cochran (1971) para mejorar la igualdad de la varianza, donde n es el número de réplicas, después los valores se transformaron a la raíz cuadrada del arcoseno para efectuar el análisis de varianza. Las medias de los tratamientos fueron comparadas y separadas con la prueba de Rango Múltiple de Duncan a $p < 0.05$ (Little y Hills, 1983; Zar, 1999). Se reportan las medias \pm error estándar de los datos sin transformar. Se realizaron pruebas de homogeneidad de varianza para *D. melanogaster* y *S. zeamais* y los aceites esenciales de las especies estudiadas, excepto para la especie inactiva, los cuales se muestran del anexo H1 al H6.

Resultados

Rendimiento de aceites esenciales

Rendimiento de los aceites esenciales totales

Se encontró que las plantas difieren entre sí en su contenido de aceites esenciales.

En la tabla 1 se muestra el rendimiento porcentual de los aceites esenciales totales obtenidos de las cinco especies seleccionadas: *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, *P. hysterothorus*, *T. erecta*, *Z. triloba* y *L. macrophylla*. *T. erecta* fue la planta con mayor cantidad de aceites esenciales, después fue *Z. triloba*; mientras que la menor concentración se presentó en *P. hysterothorus*.

Tabla 1. Rendimiento de aceites esenciales totales obtenidos de muestras frescas de las cinco especies seleccionadas.

Especie	Peso fresco (gr)	Peso de los aceites (gr)	%
ARTEMISIA LUDOVICIANA	400	0.1359	0.033
PARTHENIUM HYSTEROPHORUS	1715.8	0.4304	0.025
<i>Tagetes erecta</i>	913.06	1.2541	0.137
ZALUZANIA TRILOBA	365.27	0.462	0.126
<i>Liquidambar macrophylla</i>	524.3	0.2954	0.056

Rendimiento de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de las cinco especies de plantas

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos al determinar el contenido de aceites esenciales en los órganos de las cinco especies de plantas incluidas en el estudio. Al respecto se encontró que los aceites esenciales están distribuidos diferencialmente dentro de estas plantas; los órganos de cada especie contienen distintas cantidades de estas sustancias, excepto para *P. hysterothorus* cuya raíz y

tallos contienen la misma cantidad de aceites, 0.01 % en cada órgano, esta fue la especie con los valores más bajos de aceites. Las flores de *A. ludoviciana* spp. *mexicana* tuvieron los valores más altos de aceites (0.97 %); los órganos de *L. macrophylla* presentaron los contenidos más contrastantes de aceites, la corteza presentó 0.76 % de aceites y el follaje 0.002 % (Tabla 2).

Tabla 2. Rendimiento en porcentaje de los aceites esenciales de los órganos de cada una de las especies estudiadas.

Especie	Órgano	Muestra fresca (gr)	Peso de los aceites (gr)	%
<i>Artemisia ludoviciana</i> spp. <i>mexicana</i>	Raíz	58	0.0373	0.064
	Tallos	146.2	0.0185	0.012
	Hojas	94.8	0.3474	0.366
	Flores	98.1	0.9567	0.975
<i>Parthenium hysterophorus</i>	Raíz	308	0.0525	0.017
	Tallos	240	0.0344	0.014
	Hojas	64	0.0117	0.018
	Flores	77.5	0.0031	0.004
<i>Tagetes erecta</i>	Raíz	40.7	0.0272	0.066
	Tallos	82.9	0.0485	0.058
	Hojas	56.2	0.0744	0.132
	Flores	41	0.0127	0.030
<i>Zaluzania triloba</i>	Hojas	203.9	0.0615	0.030
	Flores	159.2	0.1047	0.065
<i>Liquidambar macrophylla</i>	Follaje	635.5	0.0155	0.002
	Fruto	308.45	0.0336	0.010
	Corteza	116.4	0.8946	0.768

Cromatografía de gases de los aceites esenciales

Al inyectar los aceites totales de las cinco especies de plantas a un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, se encontró que las muestras de aceites esenciales de tres especies (*A. ludoviciana* spp. *mexicana*, *P. hysterophorus* y *L. macrophylla*) presentaron unos cromatogramas complejos con varias señales, no así para las dos especies restantes (*T. erecta* y *Z. triloba*) que sólo presentaron de dos a tres señales.

Del cromatograma (anexo C1) de los aceites esenciales de *A. ludoviciana* spp. *mexicana* se obtuvieron los espectros de masas de los tres componentes mayoritarios con tiempos de retención de 6.847 min, 9,029 min y 9.437 min Al comparar los espectros obtenidos con los de la biblioteca digital del cromatógrafo, las sustancias fueron identificadas como 1,8-cineol (anexo E1), d- alcanfor (anexo E2) y 1-borneol (anexo E3), respectivamente (Tabla 3), de los cuales, el d-alcanfor ya había sido reportado en esta especie (Romo de Vivar, 1985).

Tabla 3. Principales componentes de los aceites esenciales de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* identificados por CG- EM.

Tiempo de retención (min.)	Área %	Datos de los espectros de masas ^a	Compuesto
6.847	20.99	81,108,71,154,93,139,55,96,68,125,121,50	1,8-cineol
9.029	29.17	95,81,108,152,69,55,93,137,119,50,193	d-alcanfor
9.437	27.30	95,110,67,96,136,55,121,79,59,134,154,156	1-borneol

^a Señales de los iones de fragmentación principales, el pico base es el primero de la lista y los otros iones se presentan en orden decreciente de abundancia relativa.

En el caso de los aceites esenciales de *P. hysterophorus*, en el anexo C2 se presenta el cromatograma obtenido donde se observan 18 señales, que corresponden a igual número de componentes; los dos componentes mayoritarios tuvieron un tiempo de retención de 14.991 y 17.059 min, al obtener los espectros de masas de los compuestos de estas dos señales, éstos se identificaron (Tabla 4) como 1,4,6,7,8,9- hexahidro-2-metoxi-3 metil-6,6-diisopropilnaftaleno (anexo E4) y 6-amino-1H- indazol-5-ácido carboxílico (anexo E5).

Tabla 4. Principales componentes de los aceites esenciales de *Parthenium hysterophorus* identificados por CG- EM.

Tiempo de retención (min.)	Área %	Datos de los espectros de masas ^a	Compuesto
14.991	9.856	159,177,135,107,121,81,91,55,137,220,205,53,202,236	1,4,6,7,8,9-hexahidro-2-metoxi 3-metil-6,6-diisopropilnaftaleno
17.059	7.976	159,177,93,107,81,121,55,135,149,53,205,220,187,234,250	6- amino-1H-indazol-5- ácido carboxílico

^a Señales de los iones de fragmentación principales, el pico base es el primero de la lista y los otros iones se presentan en orden decreciente de abundancia relativa.

En el caso de *T. erecta* se obtuvo un cromatograma (anexo C3) con sólo dos señales que corresponden a igual número de componentes, los cuales presentan un tiempo de retención de 10.664 y 11.953 min respectivamente y al obtener los espectros de masas correspondientes, los compuestos se identificaron (Tabla 5) como 3-metil-6-(1-metiletil)-2-ciclohexan-1-ona o piperitenona (anexo E6) y 3- metil-6-(1-metiletilideno)-2-ciclohexan-1-ona (anexo E7). La piperitenona ya había sido reportada en *T. erecta* (EL Deeb *et al.*, 2004).

Tabla 5. Principales componentes de los aceites esenciales de *Tagetes erecta* identificados por CG- EM.

Tiempo de retención (min.)	Área %	Datos de los espectros de masas ^a	Compuesto
10.664	80.3	82,110,95,137,152,54,67,124,154,168,193	piperitenona
11.953	19.6	150,107,135,91,79,82,53,121,67,105,122,63,145	3- metil-6- (1- metiletilideno)-2-ciclohexan-1-ona

^a Señales de los iones de fragmentación principales, el pico base es el primero de la lista y los otros iones se presentan en orden decreciente de abundancia relativa.

Para *Z. triloba* en el cromatograma correspondiente (anexo C4) se observan solo tres señales de las cuales solo se identificó una (Tabla 6) con tiempo de retención de 16.098 min como delta- cadineno (anexo E8).

Este es el primer reporte aparente acerca de la composición de los aceites esenciales de *Z. triloba*.

Tabla 6. Principales componentes de los aceites esenciales de *Zaluzania triloba* identificados por CG- EM.

Tiempo de retención (min.)	Área %	Datos de los espectros de masas ^a	Compuesto
16.098	52.02	161,204,105,81,119,134,95,189,55,69,147,51,176,202,222	delta-cadineno

^a señales de los iones de fragmentación principales, el pico base es el primero de la lista y los otros iones se presentan en orden decreciente de abundancia relativa.

Para *L. macrophylla* el cromatograma correspondiente (anexo C5) presenta siete señales de las cuales se identificaron los tres componentes mayoritarios con un tiempo de retención de 9.640 min, 9.474 min y 25.274 min respectivamente, los cuales al compararlos con los espectros de masas de la biblioteca digital del cromatógrafo se identificaron (Tabla 7) como 1-alfa-terpineol (anexo E9), terpinen-4-ol (anexo E10) y 1,2-benceno ácido dicarboxílico bis (2-etilhexil) ester (anexo E 11).

Tabla 7. Principales componentes de los aceites esenciales de *Liquidambar macrophylla* identificados por CG- EM.

Tiempo de retención (min.)	Área %	Datos de los espectros de masas ^a	Compuesto
9.474	27.88	71,111,93,86,55,69,154,136,110,1 25,167,150,187	terpinen-4-ol
9.640	11.70	59,93,121,136,81,148,68,55,107,9 6, 133,154,170	1-alfa-terpineol
25.274	45.89	149,167,279,57,71,113,104,391,18 9, 221,246,334,361	1,2-benceno ácido dicarboxílico bis (2-etilhexil) ester

^a Señales de los iones de fragmentación principales, el pico base es el primero de la lista y los otros iones se presentan en orden decreciente de abundancia relativa.

Actividad insecticida de aceites totales en *Drosophila melanogaster*

Al introducir al tubo de ensaye la tira de papel filtro con la muestra de aceites, de inmediato se observó un incremento considerable de los desplazamientos de los insectos a lo largo del tubo de ensaye, se produjeron caídas repentinas (efecto “knock down”), movimientos convulsivos y en las hembras se produjo la oviposición. Todos estos efectos no se presentaron en los insectos testigo.

Al evaluar la mortalidad producida al cabo de 20 minutos de exposición, se encontró que los aceites esenciales de las cinco especies de plantas estudiadas produjeron mortalidad en los adultos de *D. melanogaster*, que ésta difiere significativamente (Anova, $p < 0.05$) entre los tratamientos y que es dependiente de la concentración de los aceites (Tabla 8). Los aceites de *L. macrophylla* fueron los que produjeron los valores más altos de mortalidad, inclusive a la concentración más baja probada 0.053 mg/cm^3 , la mortalidad fue de 66.7 %, la cual difirió significativamente (Prueba de Rango Múltiple de Duncan, $p < 0.05$) del resto de los tratamientos. Le siguieron en actividad *Z. triloba* y *T. erecta*; las especies que produjeron la mortalidad más baja fueron *A. ludoviciana* spp. *mexicana* y *P. hysterothorus* (Tabla 8). Esta actividad se confirmó al calcular la CL_{50} ; como se observa en la Tabla 9, el valor más bajo de CL_{50} fue el de *L. macrophylla*, siendo por esto la especie más activa.

Tabla 8. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas en *D. melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.

Especie	Concentraciones mg/cm ³				
	0.053	0.079	0.105	0.131	0.263
<i>A. ludoviciana</i>	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	50.0 \pm 20.0cdef	83.3 \pm 20.0cdef	83.3 \pm 10.0efgh
<i>P. hysterothorus</i>	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	16.7 \pm 8.3ab	16.7 \pm 8.3abc
<i>T. erecta</i>	41.7 \pm 5.0bcd	50.0 \pm 0.0cde	58.3 \pm 10.0cdef	91.6 \pm 8.6cde	91.6 \pm 10.0gh
<i>Z. triloba</i>	33.3 \pm 5.0bcd	75.0 \pm 0.0defg	83.3 \pm 15.0fgh	100 \pm 0.0h	100 \pm 0.0h
<i>L. macrophylla</i>	66.7 \pm 17.3defg	91.7 \pm 10.0gh	100 \pm 0.0h	100 \pm 0.0h	100 \pm 0.0h

*En cada columna las cifras con distintas letras difieren significativamente $p < 0.05$ de acuerdo con la Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Little y Hills, 1983).

Tabla 9. CL₅₀ de los aceites esenciales totales de las cinco especies de plantas en *Drosophila melanogaster*.

Especie	CL ₅₀ mg/ cm ³	Límites de confianza del 95 %	
		Bajo	Alto
<i>Artemisia ludoviciana</i>	0.18263	0.1436	0.25529
<i>Parthenium hysterothorus</i>	0.30746	0.21246	1.8500
<i>Tagetes erecta</i>	0.08936	0	0.14107
<i>Zaluzania triloba</i>	0.06459	0.03586	0.07851
LIQUIDAMBAR MACROPHYLLA	0.03906	0	0.05719

En este sentido, la especie más activa fue *T. erecta* ya que provocó caída de los insectos a los 2 o 3 segundos de haberlos expuesto a sus aceites (Figura 7), *T. erecta* ocupó el tercer lugar en cuanto a mortalidad producida.

Zaluzania triloba fue la especie que provocó caída repentina de *D. melanogaster* al mayor tiempo de exposición, que fue de 38 segundos, por lo que se consideró la especie menos activa; en cuanto a mortalidad, *Z. triloba* ocupó el segundo lugar.

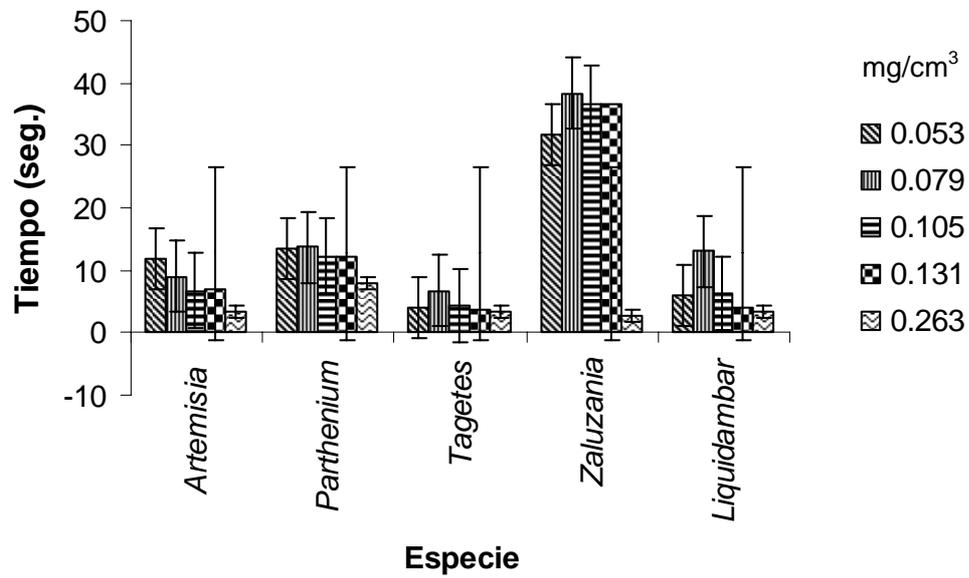


Figura 8. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *D. melanogaster*, provocada por los aceites esenciales totales de las plantas estudiadas. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

Actividad insecticida de aceites totales en *Sitophilus zeamais*

En la tabla 10 se presentan los resultados obtenidos al probar los aceites esenciales de cuatro de las cinco especies estudiadas en *S. zeamais*. *T. erecta* no se probó por la escasez de aceites. Los aceites de tres de las cuatro especies provocaron mortalidad en *S. zeamais* (Anova, $p < 0.05$); la especie más activa fue *Z. triloba* que presentó una CL_{50} de 1.1805 mg/cm^3 , le siguió en actividad *L. macrophylla* y *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, la especie inactiva fue *P. hysterothorus* (Tabla 11). En el testigo no hubo mortalidad.

Tabla 10. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas en *Sitophilus zeamais*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.

Especie	Concentraciones mg/cm^3				
	0.131	0.263	0.526	0.790	1.05
<i>A. ludoviciana</i>	8.3 \pm 8.3ab	0 \pm 0.0a	16.7 \pm 8.3abc	8.3 \pm 8.3ab	8.3 \pm 8.3ab
<i>P. hysterothorus</i>	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a
<i>T. erecta</i>	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a
<i>Z. triloba</i>	0 \pm 0.0a	8.3 \pm 0.0a	25.0 \pm 11.6abc	41.7 \pm 5.0c	33.3 \pm 5.0c
<i>L. macrophylla</i>	66.7 \pm 13.3c	8.3 \pm 8.3ab	25.0 \pm 0.0c	33.3 \pm 5.0c	33.3 \pm 15.9c

*En cada columna las cifras con distintas letras difieren significativamente $p < 0.05$ de acuerdo con la Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Little y Hills, 1983).

Tabla 11. CL_{50} de los aceites esenciales totales de las cinco especies de plantas en *Sitophilus zeamais*.

Especie	CL_{50} mg/cm^3	Límites de confianza del 95 %	
		Bajo	Alto
ARTEMISIA LUDOVICIANA	- 4.5532		nc
<i>Parthenium hysterothorus</i>	nc		nc
<i>Tagetes erecta</i>	ne		nc
<i>Zaluzania triloba</i>	1.1805	0.92497	3.17217
<i>Liquidambar macrophylla</i>	1.5294		nc

nc= no calculados, ne= no ensayada.

Los aceites esenciales totales de las cuatro especies provocaron la caída repentina de *S. zeamais*, es importante señalar que los aceites de *P. hysterothorus*, que no exhibieron mortalidad, fueron los que presentaron la caída repentina al menor tiempo, entre 4 y 6 seg, los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana* produjeron la caída entre 4 y 7 seg, mientras que la especie que presentó la mayor mortalidad también causó caída repentina entre 4 y 8 seg (Figura 9).

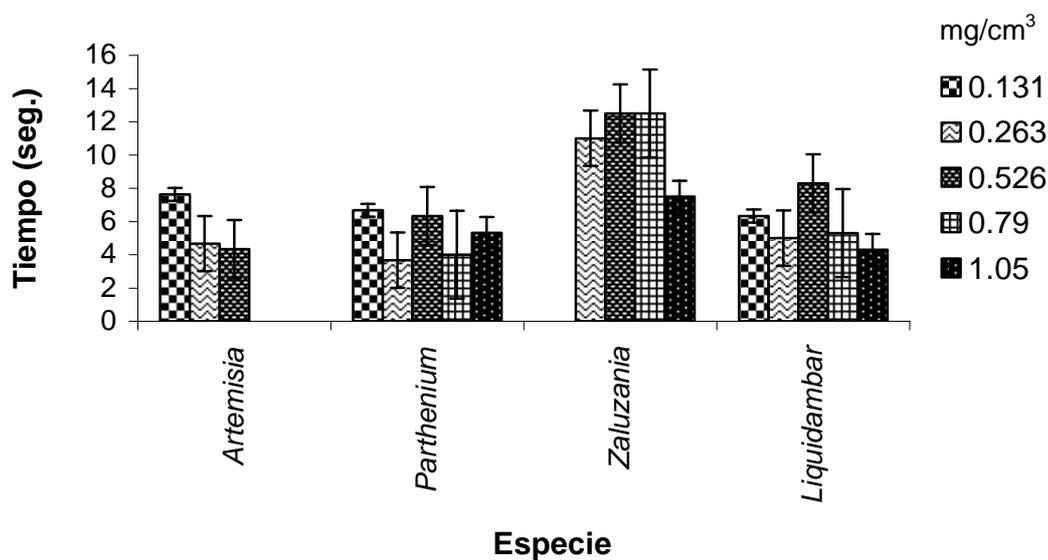


Figura 9. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *S. zeamais*, provocada por los aceites esenciales totales de las plantas estudiadas. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

Actividad insecticida de aceites esenciales de los órganos de las cinco especies seleccionadas en *Drosophila melanogaster*

Para avanzar en la caracterización de las cinco especies de plantas estudiadas en lo referente a su actividad insecticida, se decidió obtener por separado los aceites esenciales de los órganos vegetales y comprobar su efecto en adultos de *D. melanogaster*.

Al ensayar los aceites esenciales de *A. ludoviciana* spp. *mexicana* se encontraron diferencias significativas en la mortalidad producida en *D. melanogaster* (Anova, $p < 0.05$) los aceites de la raíz fueron inactivos (Tabla 12); los de los tallos presentaron baja mortalidad a 0.079 mg/cm^3 ; los aceites de las hojas y las flores presentaron mortalidad, aunque ésta fue intermedia, los valores más altos de mortalidad los presentaron en primer lugar, los aceites de las flores (66.7 %) y en segundo lugar las hojas (58.3 %) (Tabla 12); las flores presentaron mayor concentración de aceites (Tabla 2), las CL_{50} se presentan en la Tabla 13.

Tabla 12. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* en *D. melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.

Órgano	Concentraciones mg/cm^3				
	0.131	0.263	0.526	0.790	1.05
Raíz	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a
Tallo	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	16.7 \pm 8.3abc	ne
Hojas	0 \pm 0.0a	8.3 \pm 8.3ab	25.0 \pm 0.0abcd	25.0 \pm 0.0abcd	58.3 \pm 5.0de
Flores	8.3 \pm 8.3ab	41.7 \pm 16.4bcd	41.7 \pm 16.4bcd	41.7 \pm 5.0cde	66.7 \pm 15.0e

*En cada columna las cifras con distintas letras difieren significativamente $p < 0.05$ de acuerdo con la Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Little y Hills, 1983). ne= no ensayado.

Tabla 13. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana* en *Drosophila melanogaster*.

ÓRGANO	CL ₅₀ mg/cm ³	Límites de confianza del 95 %	
		Bajo	Alto
Raíz	-----		nc
Tallos	0.9050		nc
Hojas	0.9917	0.77338	1.68977
Flores	0.7685		nc

- Sin actividad, nc= no calculados

Los aceites de los cuatro órganos provocaron la caída repentina de *D. melanogaster*, pero no el mismo tiempo ya que en tallos, hojas y flores el efecto se presentó en un lapso de 2 a 6 seg y en raíz, la caída se observó entre 3 y 11 seg (Figura 10).

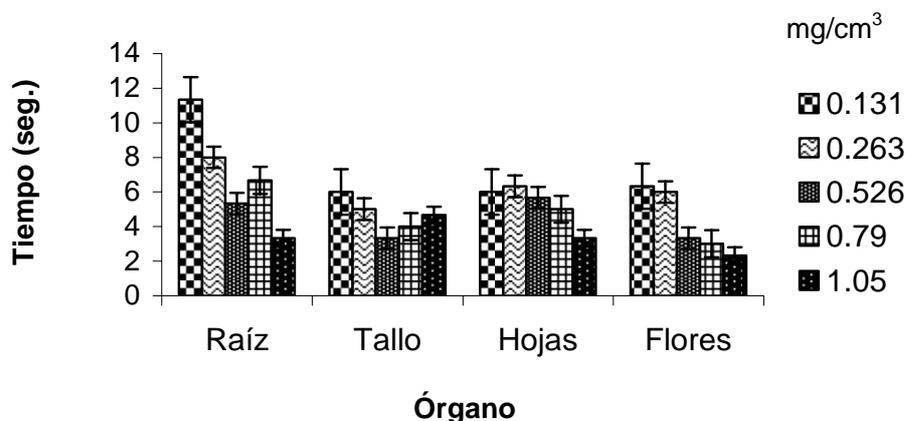


Figura 10. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *D. melanogaster*, provocada por los aceites esenciales de los órganos de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

Esta es la primera vez que se realizan pruebas con aceites esenciales de cada uno de los órganos de esta especie.

En el caso de *P. hysterothorus* no se calculo la CL₅₀ debido a que la mortalidad que causo fue de cero para los cuatro órganos en las cinco concentraciones ensayadas, a pesar de esto, sí presento un efecto de “knock down”, como se muestra en la figura 11. Las flores fueron los órganos con menor concentración de aceites (Tabla 2), pero presentaron un tiempo de caída similar a la de los otros órganos.

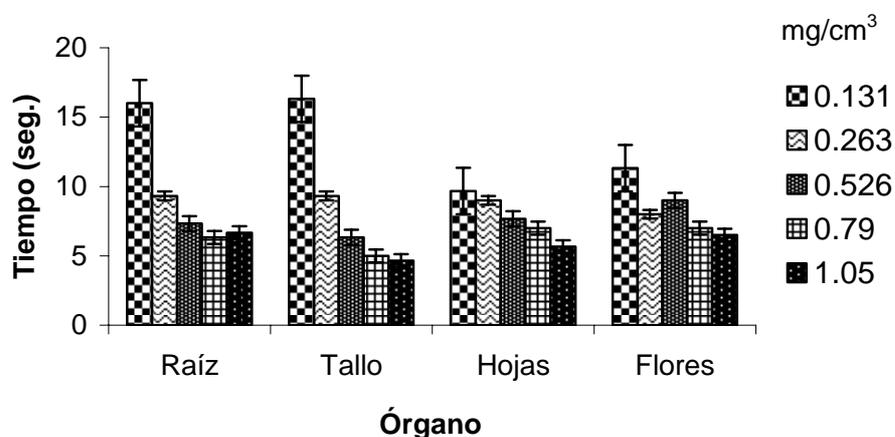


Figura 11. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *D. melanogaster*, provocada por los aceites esenciales de los órganos de *Parthenium hysterophorus*. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

En la tabla 14 se muestran los resultados de las pruebas con los aceites esenciales de los órganos de *T. erecta* probados en *D. melanogaster* que muestra un efecto experimental producido por lo tratamientos, encontrando diferencias significativas (Anova, $p < 0.05$).

Tabla 14. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de *Tagetes erecta* en *D. melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.

Órgano	Concentraciones mg/cm ³				
	0.131	0.263	0.526	0.790	1.05
Raíz	0 \pm 0.0a	16.7 \pm 8.3ab	33.3 \pm 15.9ab	ne	ne
Tallo	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	13.3 \pm 8.3a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a
Hojas	33.3 \pm 5.0abc	58.3 \pm 5.0bcd	66.7 \pm 17.3cd	83.3 \pm 15.0d	ne
Flores	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	16.7 \pm 13.3a	16.7 \pm 8.3ab

*En cada columna las cifras con distintas letras difieren significativamente $p < 0.05$ de acuerdo con la Prueba de Rango múltiple de Duncan (Little y Hills, 1983). ne= no ensayado

Mientras que la tabla 15 muestra que las hojas presentaron una CL₅₀ 0.2703 mg/cm³, por lo que es la parte más activa. Las hojas fueron los órganos con mayor concentración de aceites (Tabla 2).

Tabla 15. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Tagetes erecta* en *Drosophila melanogaster*.

ÓRGANO	CL ₅₀ mg/cm ³	Límites de confianza del 95 %	
		Bajo	Alto
Raíz	0.6265	0.46024	5.35303
Tallos	0.7670		nc
Hojas	0.2703	0	0.47789
Flores	-----		nc

- Sin actividad, nc= no calculados

Por otra parte, la caída repentina se presentó entre los 3 y 6 seg. de exposición a los aceites esenciales (Figura 12).

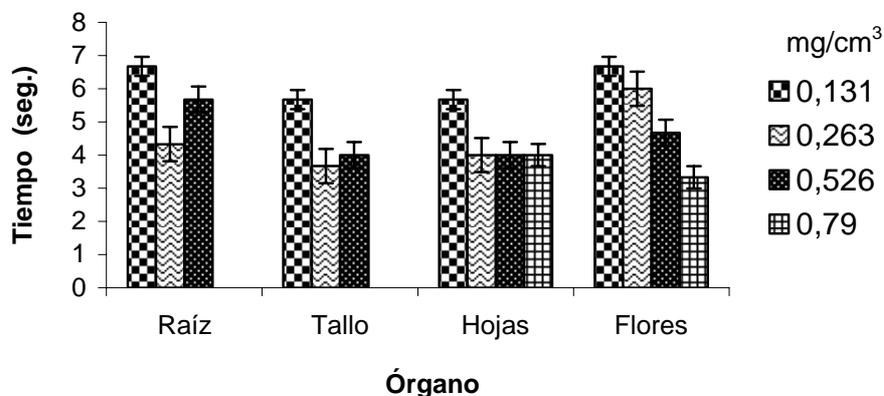


Figura 12. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *D. melanogaster*, provocada por los aceites esenciales de los órganos de *Tagetes erecta*. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

En la tabla 16 se muestra la mortalidad producida por los aceites esenciales de los órganos de *Z. triloba* probados en *D. melanogaster* con un efecto experimental producido por lo tratamientos, encontrando diferencias significativas (Anova, $p < 0.05$).

Tabla 16. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de *Zaluzania triloba* en *D. melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.

Órgano	Concentraciones mg/cm ³				
	0.131	0.263	0.526	0.790	1.05
Hojas	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	0 \pm 0.0a	8.3 \pm 8.3a	ne
Flores	8.3 \pm 8.3a	16.7 \pm 8.3a	58.3 \pm 10.0b	100 \pm 0.0c	100 \pm 0.0c

*En cada columna las cifras con distintas letras difieren significativamente $p < 0.05$ de acuerdo con la Prueba de Rango múltiple de Duncan (Little y Hills, 1983). ne= no ensayado

Para *Z. triloba* la parte más activa fueron las flores, con una CL₅₀ de 0.4430 mg/cm³ (Tabla 17), órganos que tuvieron la mayor concentración de aceites (Tabla 2) y el efecto de “knock down” se presentó de los 3 a los 12 seg de exposición como se observa en la figura 13.

Tabla 17. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Zaluzania triloba* en *Drosophila melanogaster*.

ÓRGANO	CL ₅₀ mg/cm ³	Límites de confianza del 95 %	
		Bajo	Alto
Hojas	2.7646		nc
Flores	0.4430	0.35017	0.55192

nc= no calculados

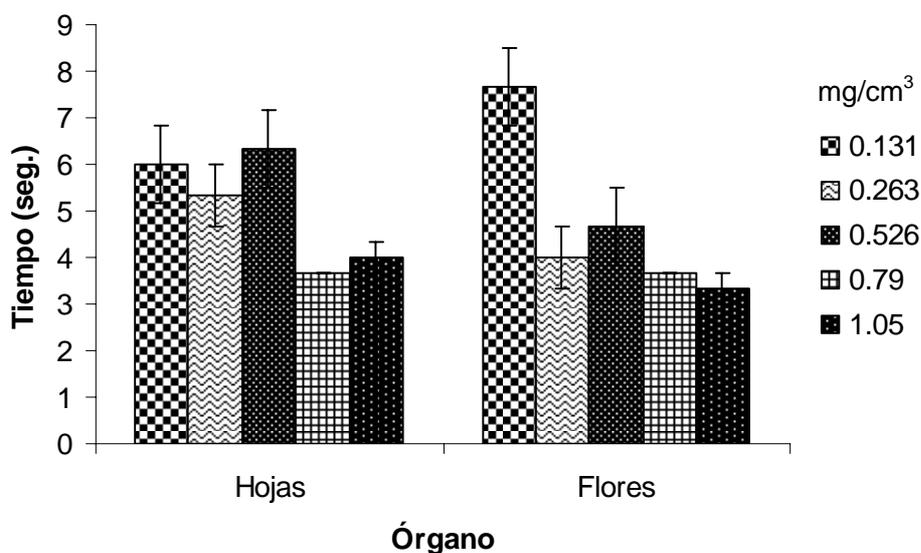


Figura 13. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *D. melanogaster*, provocada por los aceites esenciales de los órganos de *Zaluzania triloba*. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

Los resultados de las pruebas con los aceites esenciales de los órganos de *L. macrophylla* probados en *D. melanogaster* muestran un efecto experimental producido por los tratamientos, encontrando diferencias significativas (Anova, $p < 0.05$) (Tabla 18), mientras que la parte con mayor actividad es el fruto con una CL₅₀ de 0.0165 mg/cm³, seguido de la corteza y el follaje (Tabla 19).

Tabla 18. Mortalidad porcentual producida por los aceites esenciales de *Liquidambar macrophylla* en *D. melanogaster*. Valores promedio \pm error estándar de tres réplicas.

Órgano	Concentraciones mg/cm ³				
	0.131	0.263	0.526	0.790	1.05
Corteza	100 \pm 0.0b	100 \pm 0.0b	100 \pm 0.0b	100 \pm 0.0b	100 \pm 0.0b
Follaje	41.7 \pm 5.0a	58.3 \pm 5.0a	58.3 \pm 5.0a	66.7 \pm 5.0a	ne
Fruto	91.7 \pm 10.0b	91.7 \pm 10.0b	100 \pm 0.0b	100 \pm 0.0b	100 \pm 0.0b

*En cada columna las cifras con distintas letras difieren significativamente $p < 0.05$ de acuerdo con la Prueba de Rango múltiple de Duncan (Little y Hills, 1983). ne= no ensayado

Tabla 19. CL₅₀ de los aceites esenciales de cada uno de los órganos de *Liquidambar macrophylla* en *Drosophila melanogaster*.

LIQUIDAMBAR MACROPHYLLA	CL ₅₀ mg/cm ³	Límites de confianza del 95 %	
		Bajo	Alto
Follaje	0.2267		nc
Fruto	0.0165		nc
Corteza	0.0959	0.08295	0.10707

nc= no calculados

En cuanto a la caída repentina o efecto “knock down”, se presentó entre los 3 y 14 seg de exposición a los aceites de cada uno de los órganos de *L. macrophylla* como se muestra en la figura 14.

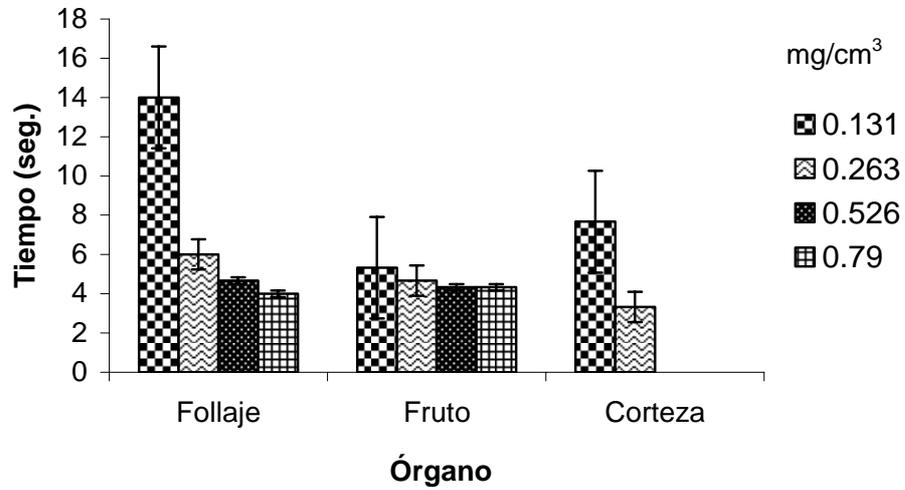


Figura 14. Tiempo en segundos, al que se presentó la caída repentina de *D. melanogaster*, producida por los aceites esenciales de los órganos de *Liquidambar macrophylla*. Las barras verticales representan el error estándar de tres réplicas.

Con base en los resultados obtenidos se puede decir que las sustancias que le confieren la actividad a esta planta se encuentran ampliamente distribuidas en los diferentes órganos de la misma.

Discusión

Las plantas no producen suficientes cantidades de compuestos tóxicos para proporcionar protección completa a todos sus tejidos, en lugar de ello los compuestos secundarios se presentan en cantidades diferentes en las distintas partes de la planta; los factores selectivos influyen en la distribución de esos compuestos (McKey, 1979).

En todos los órganos analizados de las cinco especies estudiadas se encontraron aceites esenciales, sin embargo la distribución fue diferencial, lo que parece ser un patrón que se presenta en otros grupos vegetales (McKey, 1979; Miller, 1981), como lo reportado por Angioni *et al.* (2003) que obtuvieron variación en el rendimiento de aceites esenciales de hojas de *Juniperus oxycedrus* que presentó un bajo rendimiento de 0.04 %, mientras que *J. phoenicea* spp. *turbinata* y *J. communis* exhibieron un rendimiento de 0.2 %.

Este es aparentemente el primer reporte en el que se da a conocer este bioensayo diseñado para evaluar la actividad insecticida de aceites esenciales; una de las ventajas que tiene el bioensayo es que se pueden obtener resultados en 20 minutos, en otras investigaciones el periodo de prueba fue de 24 hr o más (Araújo *et al.*, 2003; Jaenson *et al.*, 2005); también permite realizar pruebas con pequeñas cantidades de aceites esenciales lo cual es importante pues con frecuencia se dispone de cantidades limitadas, otra ventaja es que el bioensayo es sencillo y barato, además

Miyazawa *et al.* (1999) consideran que *D. melanogaster* es un insecto útil para la investigación de actividad insecticida de productos naturales.

Anteriormente no había sido estudiado el efecto insecticida de los aceites esenciales de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, *P. hysterophorus*, *T. erecta*, *Z. triloba* y *L. macrophylla*. Otros productos vegetales, como extractos y polvos, ya se habían probado en distintos insectos y algunos como los de *A. ludoviciana* y *T. erecta* habían mostrado inhibición de la alimentación o mortalidad (Lagunes, 1984; Martínez *et al.*, 1990; Correa *et al.*, 1993).

Los aceites esenciales de las cinco especies de plantas estudiadas afectaron el comportamiento de *D. melanogaster* y *S. zeamais* provocando aumento de actividad, movimientos convulsivos, caída repentina, oviposición, entre otros efectos, lo que sugiere que estos aceites afectan el sistema nervioso de los insectos, pues estas alteraciones se presentan cuando este sistema es el blanco (Aguilar *et al.*, 2004); el modo de acción de los monoterpenoides no ha sido bien entendido, sin embargo, se ha demostrado que algunos aceites esenciales son neurotóxicos (Francioz *et al.*, 1997) y que monoterpenos como el cineol, encontrado en este estudio en *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, tiene afinidad por la acetilcolinesterasa en insectos, y el alfa-terpineol detectado en *L. macrophylla* se une a receptores de octopamina, un neurotransmisor de insectos (Grodnitzky y Coats, 2002), además la presencia de aceites esenciales afectó la unión de octopamina al cordón nervioso de cucarachas (Isman, 2000). Respecto del bioensayo realizado en esta investigación se supuso que los aceites esenciales de las plantas estudiadas se volatilizaron en el interior de

los tubos de ensaye ejerciendo su acción en fase de vapor en *D. melanogaster* y *S. zeamais* y entonces los efectos se produjeron vía de penetración del sistema respiratorio y así afectaron al sistema nervioso, por esto se consideró que los aceites actuaron como fumigantes.

Es poco probable que el efecto haya sido por contacto, ya que en pocas ocasiones en el curso de los veinte minutos de la prueba, los insectos se posaron momentáneamente sobre el punto de la tira del papel filtro en el que se depositó la muestra de aceites, un proceso similar se demostró al exponer a *Trialeurodes vaporarorium* a los aceites de 53 especies de plantas (Choi *et al.*, 2003).

Si en efecto los aceites de las especies estudiadas ejercieron su acción a nivel de sistema nervioso de los insectos de prueba, entonces podrían ser considerados insecticidas alternos más selectivos ya que los vertebrados carecen de receptores de octopamina (Isman, 2000), es decir, que los aceites esenciales afectan insectos pero no a los mamíferos u otros vertebrados. Otro efecto de los aceites esenciales es la oviposición en las hembras, por lo que se sugiere que los aceites esenciales sí afectan el sistema nervioso, ya que la octopamina se encarga de abrir las valvas de oviposición (Chapman, 1998).

En lo que respecta a la mortalidad producida por los aceites esenciales de *A. ludoviciana* spp. *mexicana* en *D. melanogaster* y *S. zeamais*, es posible que este efecto tóxico se deba a que contienen d- alcanfor y 1,8- cineol (Tabla 3) ya que en

otros sistemas estos compuestos han sido activos, el alcanfor mostró efecto tóxico fumigante a 24.59 mg/L en *Blattella germanica* (Jang *et al.*, 2005) y el 1,8-cineol disminuyó la tasa de oviposición de *Thrips tabaci* (Koschier y Sedy, 2001) con 8 µl presentó 100 % de actividad acaricida (Macchioni *et al.*, 2002) y 100 % de mortalidad en larvas de *Aedes aegypti* a una concentración de 100 mg/L (Araújo *et al.*, 2003).

Los aceites de *P. hysterothorus* exhibieron baja mortalidad en *D. melanogaster* y nula en *S. zeamais*, en otros estudios, los extractos etanólicos de esta planta si causaron mortalidad en adultos de *S. zeamais* (Del Amo, 1979; Villavicencio y Pérez-Escandón, 1993); posiblemente esto se deba a la forma de preparación, que en este estudio fueron aceites esenciales, o tal vez a las concentraciones probadas. Los efectos insecticidas mostrados por *T. erecta* posiblemente fueron causados por la piperitenona que contienen sus aceites como compuesto mayoritario (Tabla 5); esta sustancia ha sido activa en *Sitophilus zeamais* (Romo, 2000).

Diferentes extractos de varias especies de *Tagetes* han mostrado propiedades nematocidas, fungicidas e insecticidas, por ejemplo, los extractos de diclorometano y metanol de *T. erecta* tuvieron actividad insecticida en *Sitophilus oryzae*, en estos casos, el efecto fue por contacto (Tomova *et al.*, 2005). *Zaluzania triloba* no había sido probada como insecticida, en este estudio ocupó el segundo lugar en actividad y en sus aceites se identificó delta-cadineno (Tabla 6); Jaenson *et al.*, (2005) demostraron que esta sustancia obtenida de plantas europeas, tuvo efecto repelente en garrapatas.

Los aceites esenciales de *L. macrophylla* causaron la mortalidad más elevada en *D. melanogaster* y *S. zeamais*, es posible suponer que los efectos de los aceites pudieron deberse a la presencia de monoterpenos como 1-alfa-terpineol y terpinen-4-ol (Tabla 7); esta suposición se basa en que en otros estudios estas sustancias exhibieron toxicidad en *D. melanogaster*, el terpinen-4-ol tuvo una LC_{50} de 17.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ y el alfa-terpineol de 17.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Isman, 2000) y, el terpinen-4-ol, obtenido de *Origanum mejorana*, causó mortalidad en *Thrips tabaci* (Koschier y Sedy, 2001).

Queda pendiente la identificación de las sustancias contenidas en cada órgano para determinar si también hay diferencias en la composición química. En lo que se refiere a la actividad insecticida de los aceites de cada órgano, en lo general se observó que los órganos con mayor concentración de aceites, presentaron el mayor efecto.

Los resultados obtenidos permiten apoyar la hipótesis propuesta ya que en todas las pruebas los aceites esenciales mostraron actividad insecticida en los dos insectos utilizados como bioensayos, mostrando diferencias significativas (Anova, $p < 0.05$); aún *P. hysterophorus* que presentó la mortalidad más baja en *D. melanogaster* y nula en *S. zeamais*, produjo caída repentina y otros efectos más. Con estos resultados, se confirman las propiedades insecticidas que la gente atribuye a estas plantas y se contribuye a validar su uso.

Conclusiones

- Los aceites esenciales produjeron mortalidad en adultos de la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster* y el gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais*, (Anova, $p < 0.000$), lo cual permite rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis propuesta.
- Estos resultados confirman las propiedades insecticidas que tradicionalmente se atribuyen a estas plantas y ponen en evidencia que las bases químicas y fisiológicas de esas propiedades, están constituidas por los aceites esenciales que contienen y por el efecto causado, en apariencia, a nivel de sistema nervioso del insecto.
- De los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas en este trabajo, los de *Liquidambar macrophylla* produjeron la mayor mortalidad en *D. melanogaster*.
- De los aceites esenciales de las cinco especies estudiadas en este trabajo, los de *Zaluzania triloba* produjeron la mayor mortalidad en *S. zeamais*.
- Con respecto a los aceites esenciales obtenidos de los diferentes órganos (raíz, tallo, hojas y flores; así como de corteza, follaje y fruto para *L. macrophylla*) de las cinco especies seleccionadas se encontró:

- ✓ en *A. ludoviciana* spp. *mexicana* y *Z. triloba* la parte más activa son las flores,
 - ✓ en *P. hysterophorus* no se obtuvo mortalidad con ninguna concentración de aceites esenciales de los diferentes órganos,
 - ✓ para *T. erecta* fueron las hojas,
 - ✓ y para *L. macrophylla* la parte con mayor actividad es el fruto seguido de la corteza, y posteriormente el follaje.
-
- El conocimiento tradicional que hay en el estado de Hidalgo sirve de base para realizar estudios etnodirigidos para la búsqueda de principios activos para combatir plagas.

 - Los resultados obtenidos muestran que la flora del Estado de Hidalgo, y principalmente las especies seleccionadas, son una fuente importante de insecticidas, lo que ayuda a confirmar y validar las propiedades que se atribuyen tradicionalmente a estas plantas.

 - Los resultados revelan a las cinco especies de plantas estudiadas como una alternativa para combatir plagas de insectos, la cual pudiera ser más selectiva ya que en los aceites esenciales se encontraron sustancias que, de acuerdo a la literatura, sólo afectan a los insectos y no a los mamíferos, además de que estas especies tienen uso medicinal (Pérez-Escandón *et al.*, 2003) y aparentemente no cuentan con antecedentes de efectos adversos.

Literatura citada

Aguilar-Gil, B., R. Meneses y L. González. 2000. **Extracto acuoso de escoba amarga. Estudio preliminar de sus propiedades.** Revista Cubana de Plantas Medicinales 5 (3): 123-124.

Aguilar, C. A., J. R. Camacho P., S. Chino V., P. Jácquez R. y M. E. López. 1994. **Plantas medicinales de Herbario IMSS. Cuadros básicos por aparatos y sistemas del cuerpo humano.** Instituto Mexicano del Seguro Social. México. 218 p.

Aguilar, C. A., J. R. Camacho P., S. Chino V., P. Jácquez R. y M. E. López. 1998. **Plantas medicinales del Herbario IMSS: Su distribución por enfermedades.** Instituto Mexicano del Seguro Social. México. 167 p.

Aguilera, L., J. E. Tacoronte, A. Navarro, M. Leyva, A. Bello, M. T. Cabrera y M. C. Marquetti. 2004. **Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Eugenia melanadenia* (Myrtales: Mirtáceas) sobre *Blatella germanica* (Dyctioptera: Blatellidae).** Ciencias Químicas 35 (3): 131- 134.

Akerele, O. V. Heywood y H. Synge. 1991. **The Conservation of Medicinal Plants.** Cambridge University Press. Cambridge. 362 p.

Albert, L. y E. Aranda .1986. **La legislación mexicana sobre plaguicidas. Análisis y propuestas de modificaciones.** Folia Entomológica Mexicana 68: 75- 87.

Anaya, A. L. y R. Cruz O. 2001. **La alelopatía: algunos estudios de casos y posibles aplicaciones.** En: Anaya, A. L., F. Espinoza G. y R. Cruz O (Coords).

Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación. Plaza y Valdés Editores. México D. F. p. 33- 67.

Anaya, A. L., F. Espinoza G. y R. Cruz O. 2001. **Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación.** Plaza y Valdés. México D. F. 733 p.

Angioni, A., A. Barra, M. T. Russo, V. Coroneo, S. Dessí y P. Cabras. 2003. **Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and their Antimicrobial Activity.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 3073-3078.

Arata, A. 1984. **El uso de plaguicidas en la agricultura y la salud pública. El punto de vista de la ecología humana.** Folia Entomológica Mexicana 59: 139- 185.

Araújo, E. C. C., E. R. Silveira, M. A. S. Lima, M. A. Neto, I. L. de Andrade y M. A. A. Lima. 2003. **Insecticidal activity and chemical composition of volatiles oils from *Hyptis martiussi* Benth.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (13): 3760-3762.

Argueta, A. (Coord.) 1994. **Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana.** 3 Vols. Instituto Nacional Indigenista. México D. F. 1786 p.

Arnason, J. J., Philogene, B. J. y Morand, P. (eds.) 1989. **Insecticides of Plant Origin.** American Chemical Society. Washington, D. C. 213 p.

Balandrin, M. F., J. A. Klocke, E. S. Wurtele y W. H. Bollinger. 1985. **Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials.** Science 228: 1154-1160.

Balick, M. J. y P. A. Cox. 1999. **Plants, people and culture. The science of ethnobotany.** Scientific American Library. Nueva York. 228 p.

Cavalcanti, B. E. S., de Moraes M. S., Lima M. A. y Pinho, S. E. 2004. **Larvicidal activity of essential oils from Brazilian Plants against *Aedes aegypti* L.** Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brasil. 99 (5): 541- 544.

Berenbaum, M. R. 1989. **North America ethnobotanicals as sources of novel plant based insecticides.** En: Arnason, J. T., B. J. R. Philogene y P. Morand (eds.). **Insecticides of plant origin.** American Chemical Society. Symposium series 387. Washington, D. C. p. 213.

Berger, A. 1994. **Using natural pesticides current and future perspectives.** 30 p.
http://www.vaxteco.nu/html/sll/slu/rapport_vaxtsk_vetensk/RVX02/RVX02.htm

Correa, L. A. J., Moreno-Sales P. y A. Mastache-Arzate. 1993. **Polvos minerales y vegetales para reducir el daño del gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus* Boh. COLEOPTERA: BRUCHIDAE.** Memorias XVIII Congreso Nacional de Entomología. Universidad de las Américas. Cholula, Puebla. p. 429.

Chapman, R. F. 1998. **The insects. Structure and Function.** 4th Ed. Cambridge University Press. Cambridge. 770 p.

Choi, W. I., E. H. Lee, B. R. Choi, H. M. Park y Y. J. Ahn. 2003. **Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporarorium* (Homoptera: Aleyrodidae).** Journal of Economic Entomology 96 (5): 1479- 1484.

Consortium International Crop Protection. 1998. **Indigenous Crop Protection Practices in sub- Sahara East Africa, their status and significance relative to small farmer IPM Programs in developing Countries.** 1-12.

Del Amo, R. S. 1979. **Plantas medicinales del estado de Veracruz.** Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB). Xalapa, Veracruz. 279 p.

Domínguez, X. A. 1979. **Métodos de investigación fitoquímica.** Limusa. México. 281 p.

Duke, S. O. 1990. **Natural pesticides from plants.** En: J. Janick y J. E. Simons (eds.). **Advances in new crops.** Timber Press, Portland, OR. 511- 517.

EL- Deeb, K. S., F. Abbas, A. El Fishawy y J. Mossa. 2004. **Chemical composition of the essential oil of *Tagetes minuta* growing in Saudi Arabia.** Saudi Pharmaceutical Journal 12 (1): 51- 53.

FAO y OMS. 2004. **Manual sobre elaboración y empleo de las especificaciones de la FAO y la OMS para plaguicidas**. Roma. 271 p.

Francioz G., M. Mirotsoy, E. Hatziapostolou, J. Kral, Z. G. Scouras y P. Mavragani-Tsipidou. 1997. **Insecticidal and Genotoxic Activities of Mint essential oils**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45 (7): 2690- 2694.

Golob, P., C. Moss, M. Dales, A. Fidgey y J. Evans. 1999. **The use of spices and medicinals as bioactive protectants for grains**. FAO Agricultural Services. Boletín 137. Roma. 197 p.

González, A. M. E. y M. Róvalo M. 1984. **Acción insecticida del aceite esencial de la barreta *Helietta parvifolia* (Gray) Benth. sobre la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens* (Loew)**. Biótica 9 (1): 65- 74.

Grodnitzky, J. A. y J. R. Coats. 2002. **QSAR evaluation of monoterpenoids insecticidal activity**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (16): 4576- 4580.

Hernández del Ángel, F. A. M, Y. Jasso P., N. C. Cárdenas O., B. I. Juárez F. y J. Fortanelli M. 2000. **Actividad insecticida y antifúngica de dos especies de la Familia Asteraceae**. Acta Científica Potosína 15 (1): 40- 53.

Isman M. B. 2000. **Plant essential oils for pest and disease management**. Crop Protection 19: 603- 608.

Isman, M. B., A. J. Wan y C. M. Passreiter. 2001. **Insecticidal Activity of Essential Oils to the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura***. *Fitoterapia* 72 (1): 65-68.

Jaenson, T. G. T., K. Palsson y K. Borg- Karlson. 2005. **Evaluation of extracts and oils of tick-repellent plants from Sweden**. *Medical and Veterinary Entomology* 19: 345- 352.

Jang, Y. S., Y. C. Yang, D. S. Choi y J. Ahn. 2005. **Vapor phase toxicity of majoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae)**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (20): 7892- 7898.

Koschier, E. H. y K. A. Sedy. 2001. **Effects of plants volatiles on the feeding and oviposition of *Thrips tabaci***. *Trips and topoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera*. Reggio Calabria, Italia. p. 185-187.

Lagunes T. A. 1984. **Empleo de sustancias vegetales contra plagas del maíz como una alternativa al uso de insecticida en áreas de temporal, Informe del proyecto cooperativo PROAF- CONACYT- PCAFBNA- 001299**. CONACYT- CP-UACH- INIA- DGSV. Chapingo, México. 162 p.

Lagunes, T. A., L. Arenas C. y C. Rodríguez H. 1987. **Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas**. Colegio de Posgraduados. Chapingo, México. 203 p.

Lee Hoi- Seon. 2004. **Acaricidal activity of constituents identified in *Foeniculum vulgare* fruit oil against *Dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae).** Journal of Agricultural and Food Chemistry 32: 2887- 2889.

Little T. M. y F. J. Hills. 1983. **Métodos estadísticos para la Investigación en la Agricultura.** Trillas. México. 270 p.

López S., J. A. 2000. **Los mil y un usos de las plantas.** En: **Botánica Mágica y Misteriosa.** Ediciones Mundi- prensa. Madrid, España. Pp 99-111.

Lundberger, K. 2002. **An enviromental impact assessment model for malaria control in developing countries.** Thesis for the Degree of Master in Biology. Swedish University of Agiculture Sciences.Uppsala. 46 p.

Mabry, T. J. y J. E. Gill. 1979. **Sesquiterpene Lactones and Other Terpenoids.** En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (eds.). **Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites.** Academic Press. Nueva York. p. 501- 538.

Macchioni, F., P. L. Cioni, G. Flamini, L. Morelli, S. Perrucci, A. Franceschi, G. Macchioni y L. Ceccarini. 2002. **Acaricidal activity of pine essential oils and their main components against *Tyrophagni putrescential*, a stored food mite.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (16): 4586- 4588.

Macêdo, M. E., R. A. Consoli G. B., T. Grandi S. M., A. dos Anjos M. G., A. de Oliveira B., N. Mendez M., R. Queiróz O. y C. Zani L. 1997. **Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes***

fluviatilis (Diptera: Culicidae). Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 92 (4): 565-570.

Martínez, G. B., J. G. Hernández, I. Soto S., J. Díaz S. y J. C. Pedraza F. 1990. **Determinación de la toxicidad causada por extractos vegetales sobre conchuela de frijol (*Epilachna varivestis*) Muls. (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) en bioensayos de laboratorio.** En: Memorias del XXV Congreso Nacional de Entomología. II Simposio Nacional sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas. Oaxaca, Oax. 38 p.

Martínez, M. 1990. **Las plantas medicinales de México.** Sexta edición. Librería y ediciones Botas. México. 656 p.

Martínez, A. M. A., V. Evangelista, O., M. Mendoza V., G. Morales, G., G. Toledo O. y A. Wong, L. 1995. **Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México.** Cuadernos del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 303 p.

Mckey, D. 1979. **The Distribution of Secondary Compounds within Plants.** En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (eds.). Herbivores. **Their Interaction with Secondary Plant Metabolites.** Academic Press. Nueva York. P. 55- 134.

McVaugh. 1984. **Flora Novo-Galiciana. Compositae.** University of Michigan Press. Ann. Arbor. Michigan. Estados Unidos. 1157 p.

Metcalf, C. L. y W. P. Flint. 1984. **Insectos destructivos e insectos útiles**. CECSA. México.

Miller, E. V. 1981. **Fisiología vegetal**. Editorial Hispano- Americana. México. 111-114 p.

Miyazawa M, M. Fukuyama, K. Yoshio, T. Kato y Y. Ishikawa. 1999. **Biologically Active Components against *Drosophila melanogaster* from *Podophyllum hexandrum***. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47(12): 5108- 5110.

Pérez-Escandón, B. E. M. A. Villavicencio y A. Ramírez A. 2003. **Listado de plantas útiles del estado de Hidalgo**. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo. P. 134.

Prakash, A. y J. Rao. 1997. **Botanical Pesticides in Agriculture**. Lewis Publishers. Nueva York. 461 p.

Ramos, M. P. (Coord.). 1993. **Manual de laboratorio de Genética para *Drosophila melanogaster***. Mc Graw- Hill Interamericana de México. México. 125 p.

Regnault- Roger C. y A. Hamraoui. 1993a. **Influence d'huiles essentielles aromatiques sur *Acanthoscelides obtectus* Say, bruche du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Acta Botánica Gallica 140 (2): 217- 222.

Regnault-Roger C. y A. Hamraoui. 1993b. **Efficiency of Plants from the South of France used as traditional protectants of *Phaseolus vulgaris* L. against its Bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say).** Journal of Stored Products Research 29 (3): 259- 264.

Regnault- Roger C., A. Hamraoui, M. Holeman, E. Theron y R. Pinel. 1993c. **Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.).** Journal of Chemical Ecology 19 (6): 1233-1244.

Restrepo, I. 1992. **Los plaguicidas en México.** Comisión Nacional de Derechos Humanos. México D. F. 296 p.

Rhoades, D. F. 1979. **Evolution of Plant Chemical Defense against Herbivores.** En: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen (eds.). **Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites.** Academic Press. U.S.A. 718 p.

Rodríguez H. C. y A. Lagunes. 1992. **Plantas con propiedades insecticidas: Resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo y granos almacenados.** Agroproductividad 1 (1): 17- 25.

Rodríguez, H. C. y J. Djair. 1996. **Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).** Manejo Integrado de Plagas 42: 14- 22.

Rodríguez, H. C. y J. Djair V. 1998. **Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de Meliaceas sobre *Spodoptera frugiperda*.**

Manejo Integrado de Plagas 48: 11- 18.

Rodríguez, H. C., G. Silva y J. D. Vendramim. 2003. **Insecticidas de origen vegetal.**

En: G. Silva y R. Hepp (eds). **Bases para el manejo racional de insecticidas.**

Universidad de Concepción-Fundación para la Innovación Agraria. Chillán. Chile. P.

87-112.

Román M. D. 1990. **Extractos y polvos vegetales con propiedades insecticidas:**

una alternativa en el combate del gorgojo del maíz, *Sitophilus zeamais*

Motschulsky (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE), en granos almacenados. Tesis

profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 120 p.

Romo de Vivar, A. 1985. **Productos naturales de la flora mexicana.** Limusa.

México. 220 p.

Romo, G. C. 2000. **Aceites esenciales de *Hedeoma piperitum* (Labiatae) con**

actividad insecticida en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera). Tesis de Licenciatura.

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. 59 p.

Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski. 2001. **Flora fanerogámica del Valle de México.**

Segunda edición. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para en

Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán). 1406 p.

Saxena, R. C. 1989. **Insecticides from neem**. En: Arnason, J. T., B. J. R. Philogene y P. Morand (eds.). **Insecticides of plant origin**. American Chemical Society. Symposium series 387. Washington, D. C. P. 110- 135.

Schultes, R. E. y S. von Reis. 1997. **Ethnobotany. Evolution of a discipline**. Dioscorides Press. Portland. 414 p.

Secoy D. M. y A. E. Smith. 1983. **Use of plants in Control of Agricultural and Domestic Pests**. Economic botany. 32 (1): 28-57.

Sievers, F., W. A. Archer, R. H. Moore y E. R. McGrovan. 1949. **Insecticidal Tests of Plants from tropical America**. Journal of Economic Entomology 42 (3): 549-551.

Silva A. G., A. 2001a. **Las plantas como fuente de insecticidas**. Universidad de Concepción. Chillan, Chile. Ciencia Ahora 4 (8): 75-80.

Silva, A. G. 2001b. **Insecticidas vegetales “volver al futuro” en el combate de insectos**. En: Rodríguez, H. C. (editor). **Memorias del II Simposio Internacional y VII Nacional sobre Sustancias vegetales y minerales en el Combate de Plagas**. Colegio de Posgraduados. Querétaro. p. 75- 80.

Silva, G. 2002. **Insecticidas vegetales**. En: Radcliffe's IPM World Textbook. University of Minnesota. National IPM Network. CICP. USA. (On Line) disponible en: <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/GsilvaSp.htm> [Consultado el: 5 de Octubre del 2002].

Silva, A. G., A. Lagunes T., J. C. Rodríguez M. y D. Rodríguez L. 2002. **Insecticidas vegetales una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas**. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. (66): 4-12.

Snedecor, G. W. y W. G. Cochran. 1971. Métodos estadísticos. Continental. México D. F. 703 p.

Standley, P. 1920- 1926. **Trees and shrubs of México**. Smithsonian Institution. U. S. Nat. Mus. Washington, D. C. 1721 p.

Tomova, S. B, J. S. Waterhouse y J. Doberski. 2005. **The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction**. Entomologia Experimentalis et Applicata. 115: 153-159.

Valencia, O. C. 1995. **Fundamentos de Fitoquímica**. Trillas. México. 235 p.

Villavicencio, M. A. y Pérez-Escandón B. E. 1993. **Actividad insecticida de extractos y sustancias de plantas de Hidalgo, México**. En: Villavicencio, M. A., Marmolejo y B. E. Pérez E. **Investigaciones recientes sobre Flora y Fauna de Hidalgo, México**. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca. p. 395-413.

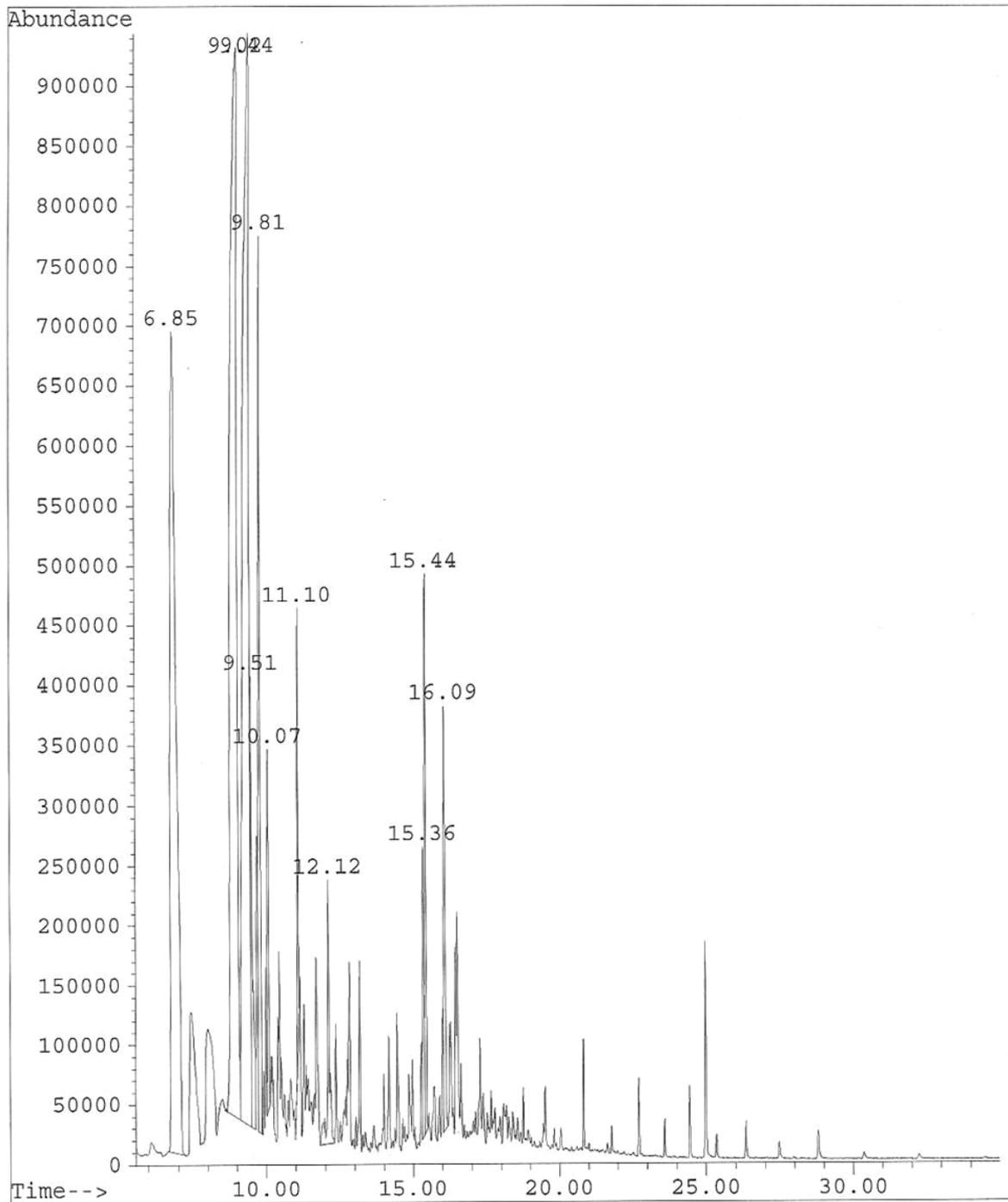
Villavicencio, M. A., B. E Pérez-Escandón y A. Ramírez Aguirre. 1995. **Plantas útiles del estado de Hidalgo I**. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo. 128 p.

Villavicencio, M. A., B. E. Pére-Escandón y A. Ramírez Aguirre. 2002. **Plantas útiles del estado de Hidalgo II**. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo. 247 p.

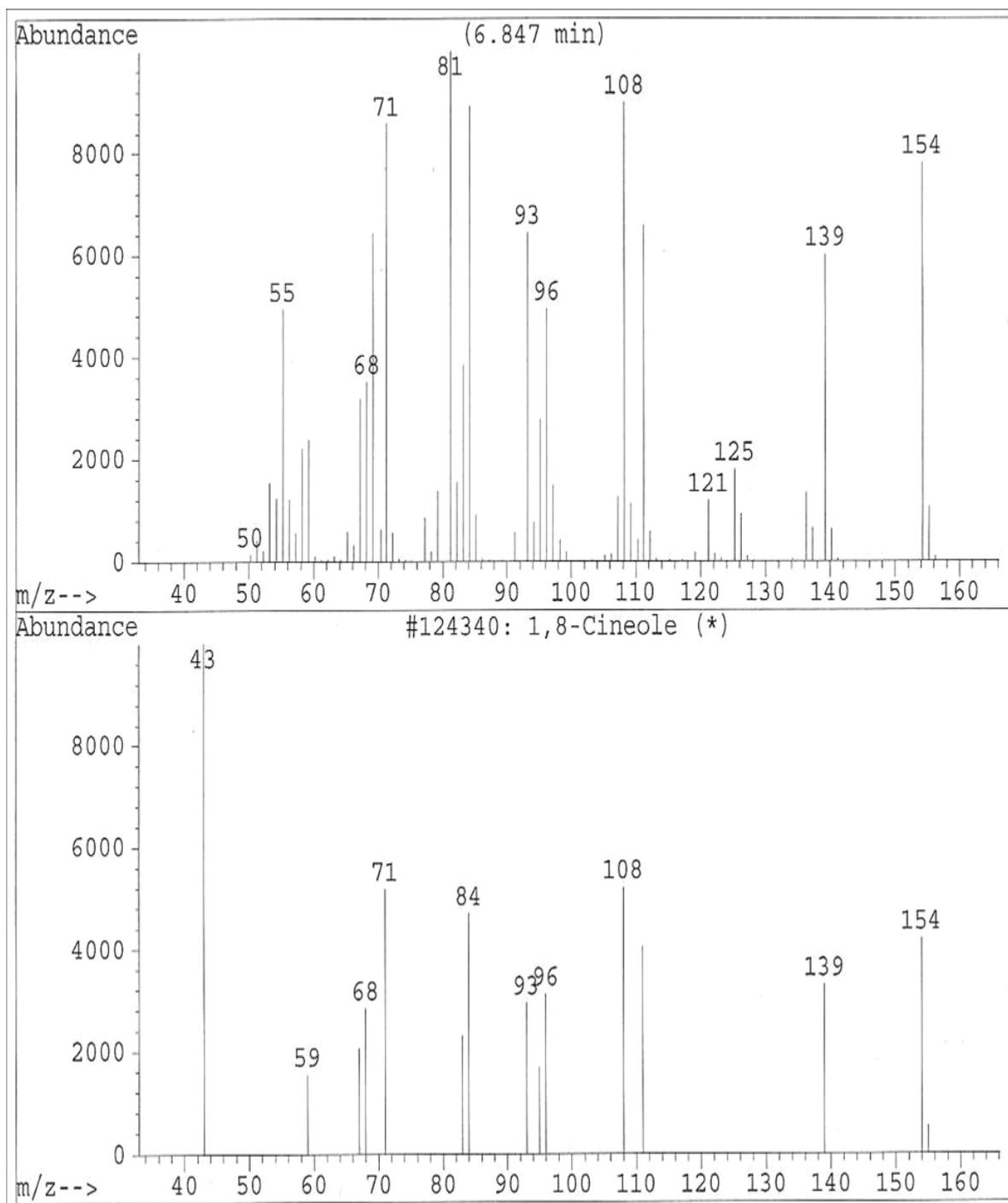
WHO. 2003. **Directrices sobre la gestión de los plaguicidas para la salud pública**. Organización Mundial de la Salud. Génova. 61 p.

Zar, J. H. 1999. **Bioestatistical Analysis**. 4tha Edition. Prentice Hall. Nueva Jersey. 633 p.

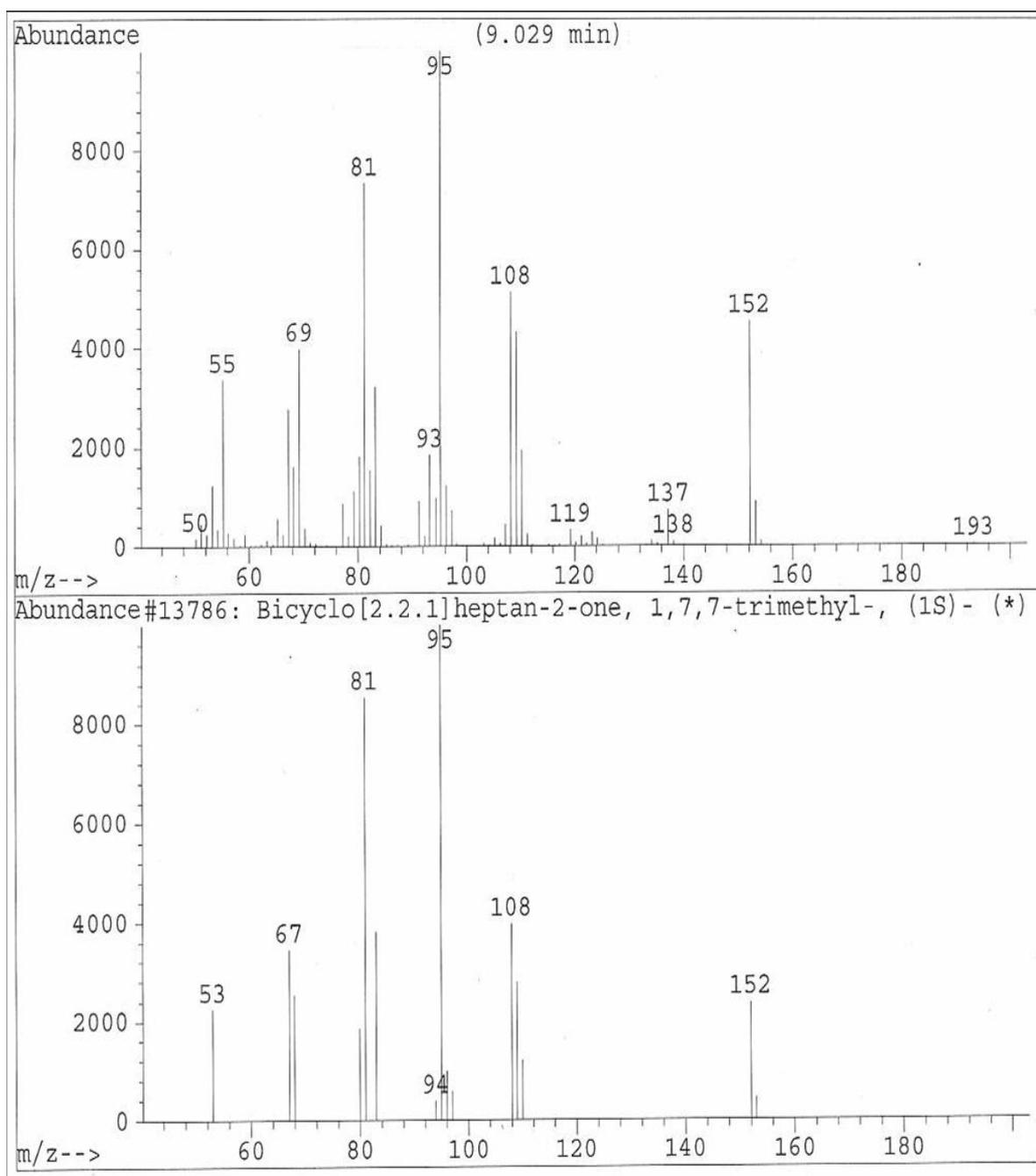
**ANEXOS DE
CROMATOGRAMAS
Y
ESPECTROS DE
MASAS**



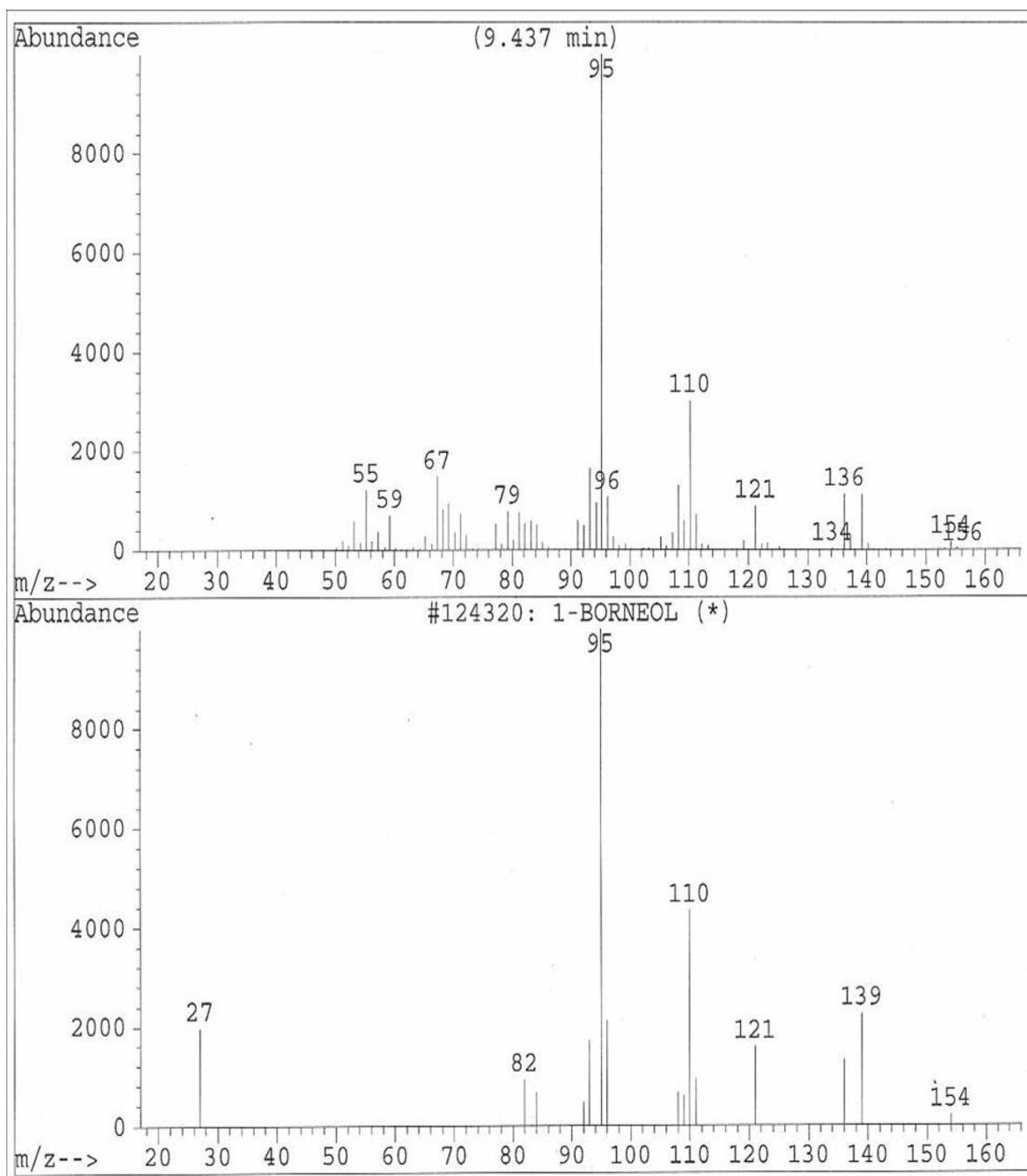
C 1. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Artemisia ludoviciana* spp. *mexicana*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min.



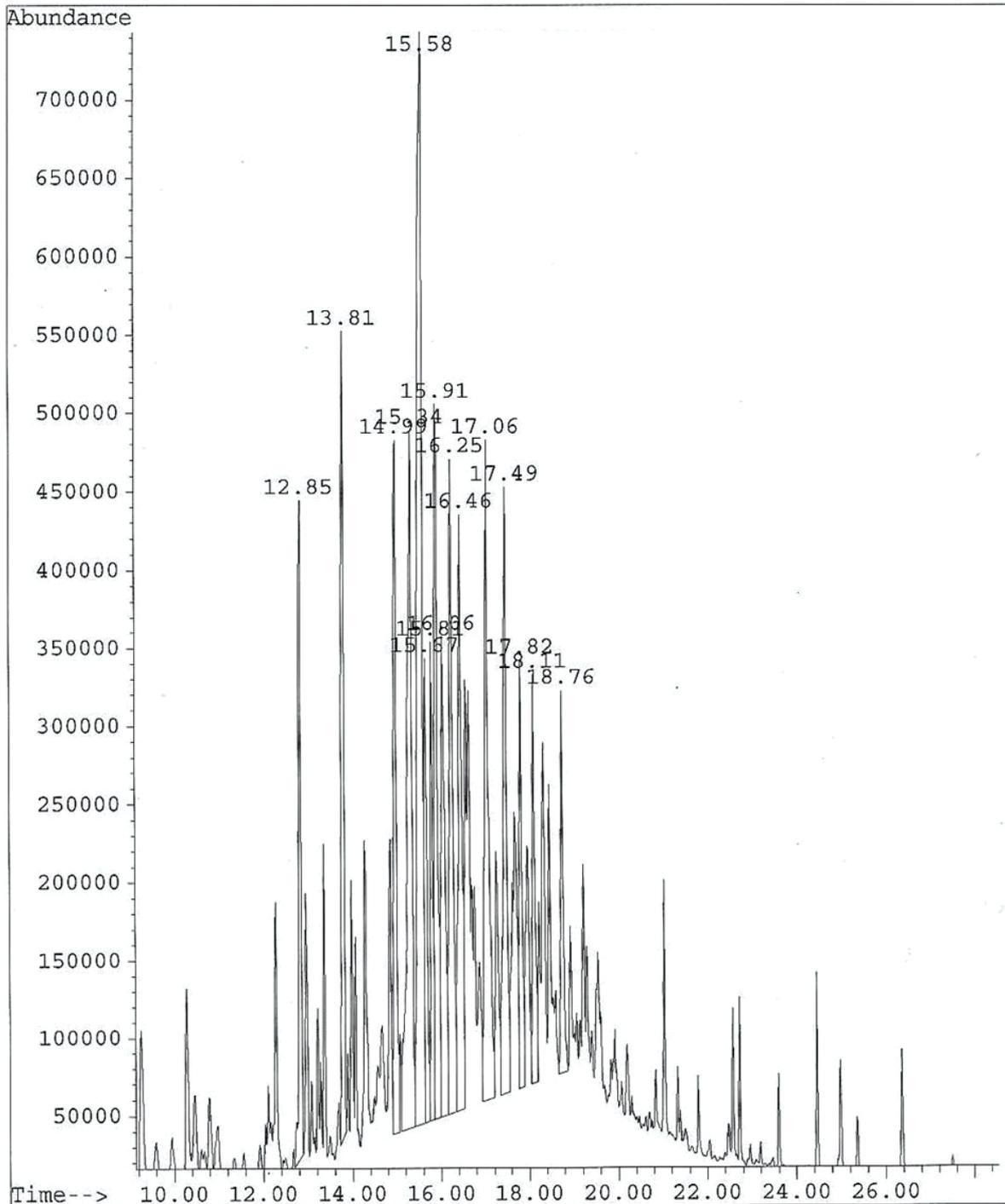
E 1. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, con tiempo de retención de 6.847 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1,8- cineol.



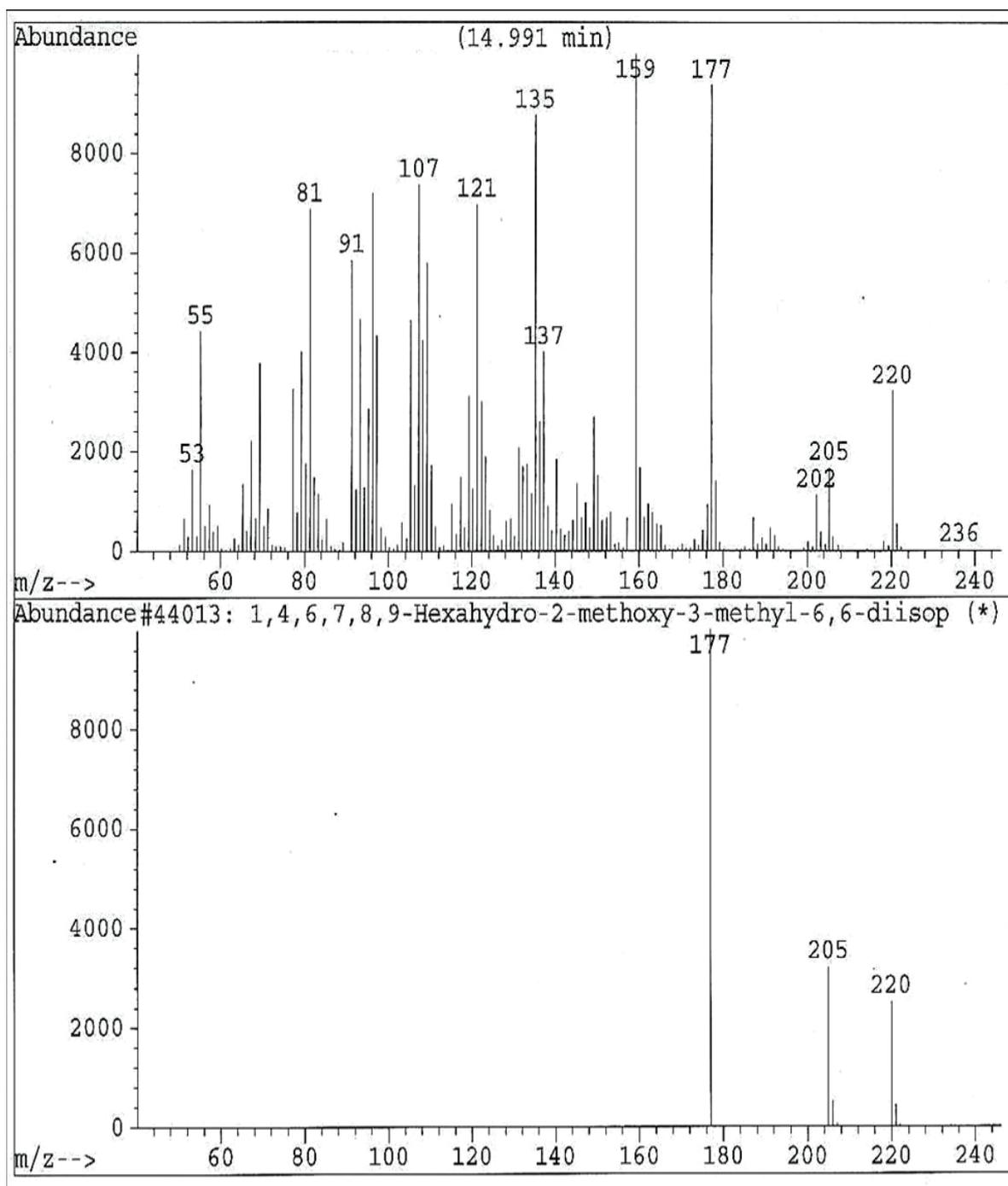
E 2. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, con tiempo de retención de 9.029 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a d-alcanfor (abajo).



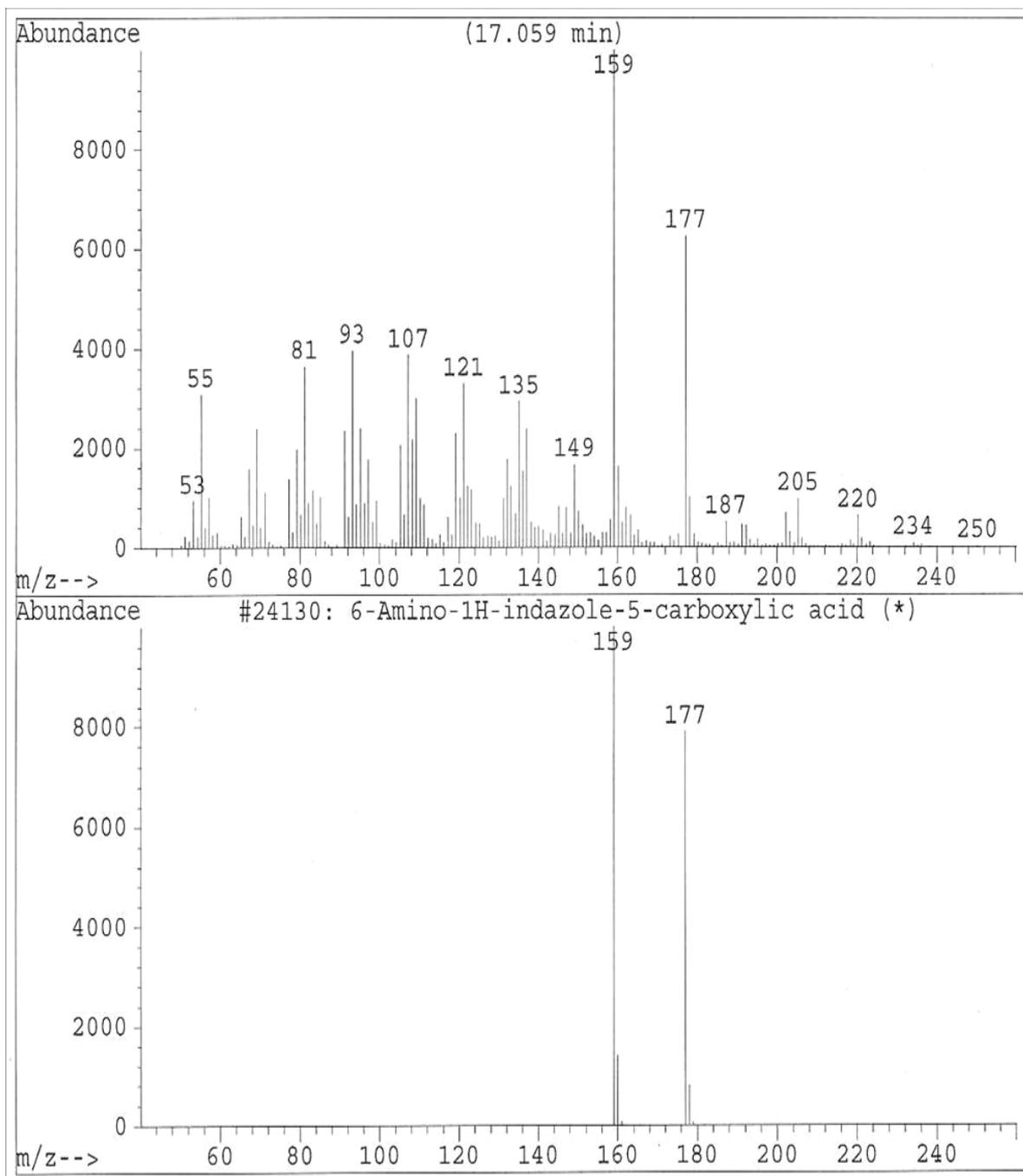
E 3. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *A. ludoviciana* spp. *mexicana*, con tiempo de retención de 9.437 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1-borneol (abajo).



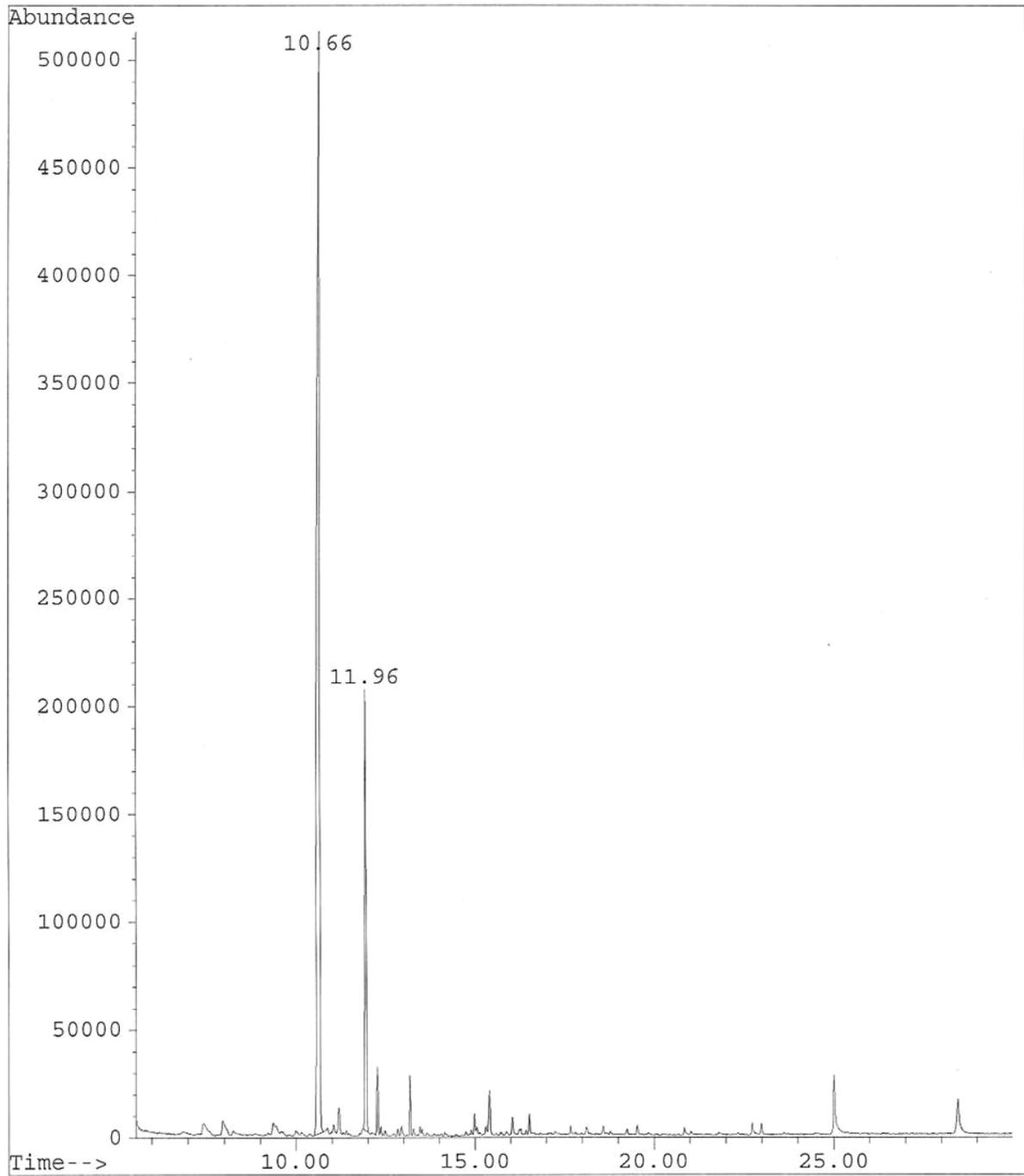
C 2. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Parthenium hysterophorus*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min.



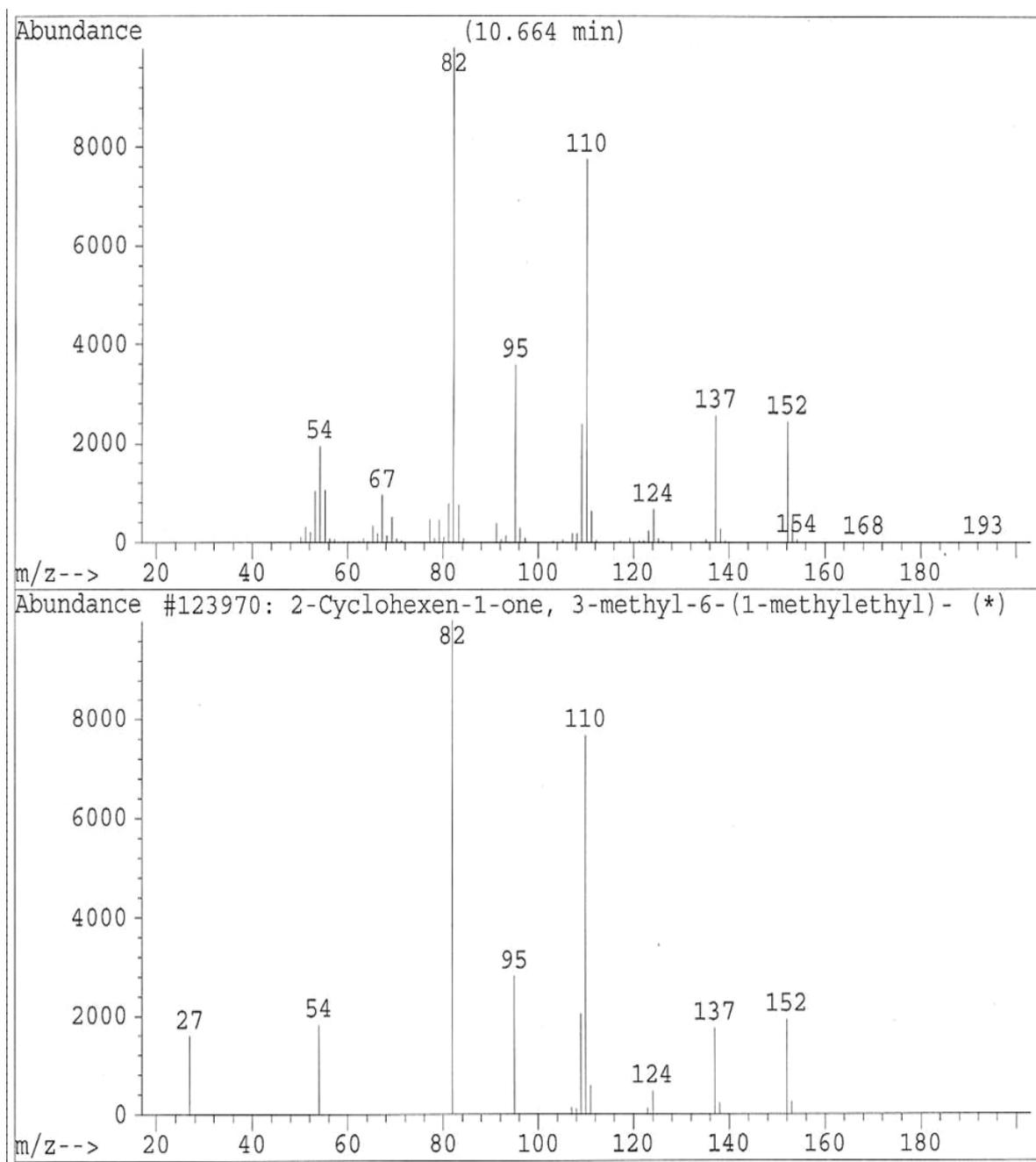
E 4. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *P. hysterothorus* con tiempo de retención de 14.991 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1,4,6,7,8,9 hexahidro-2-metoxi-3metil-6,6-diisopropilnaftaleno (abajo).



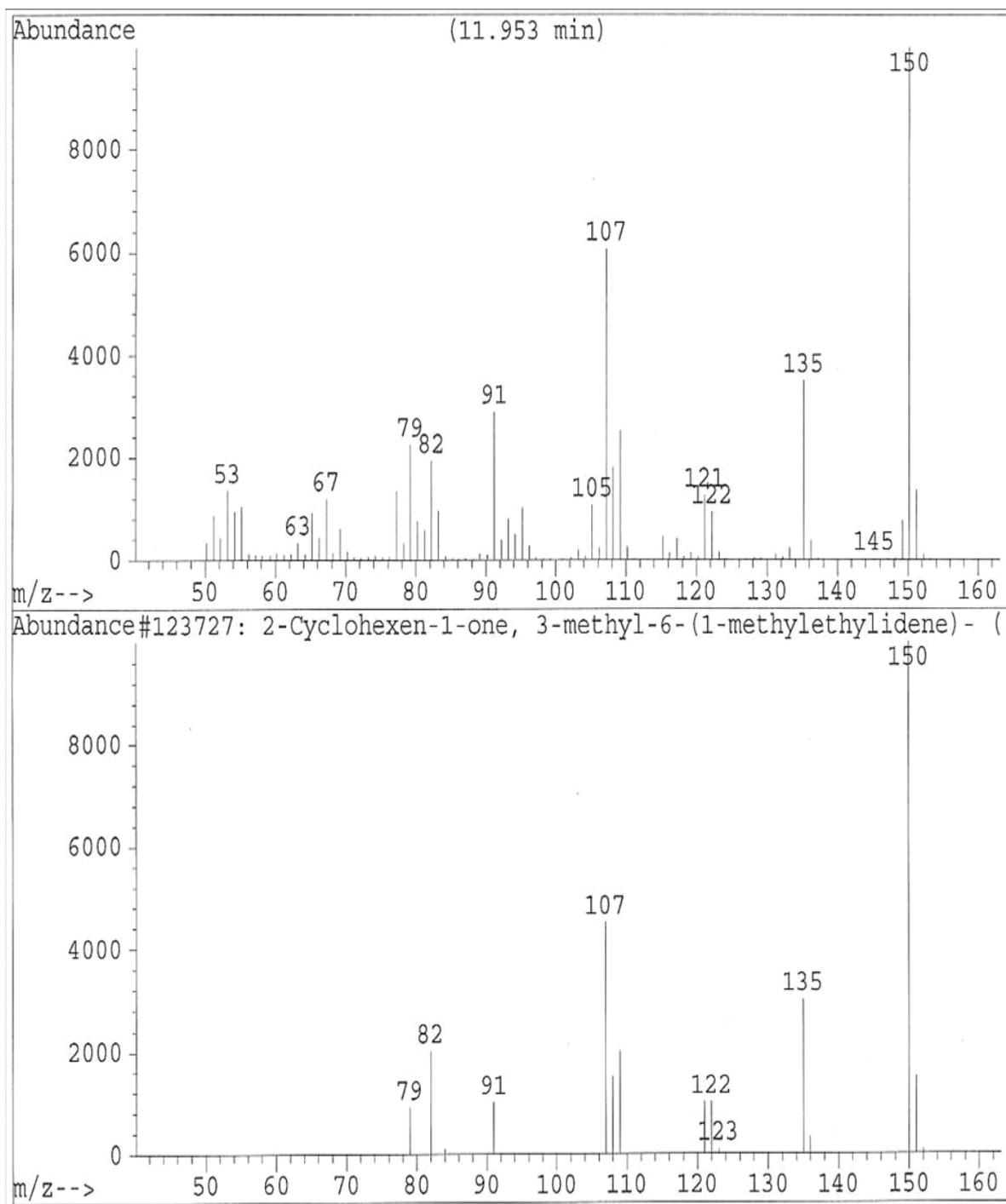
E 5. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *P. hysterothorus* con tiempo de retención de 17.059 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 6-amino-1H-indazol-5-ácido carboxílico (abajo).



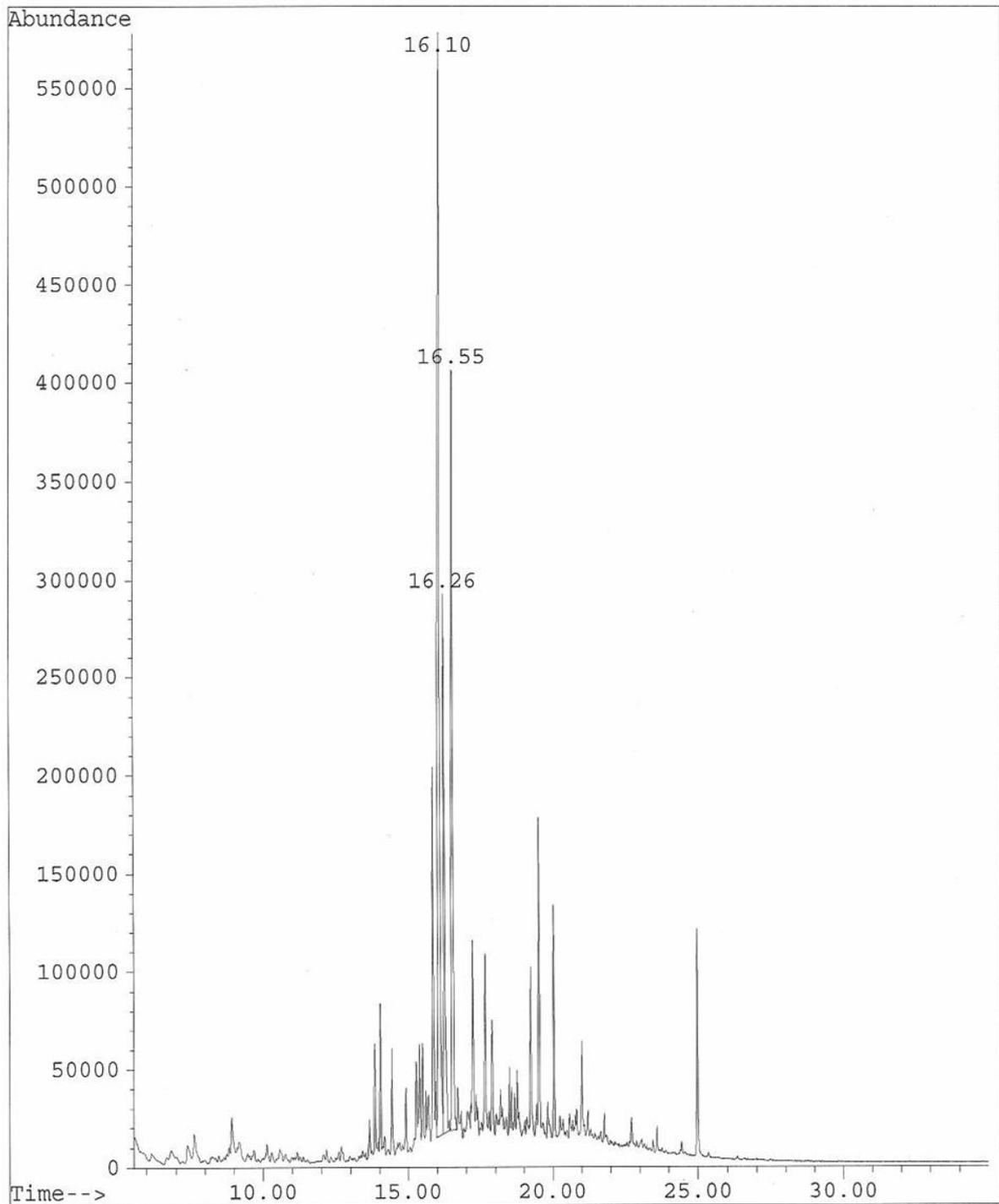
C 3. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Tagetes erecta*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min.



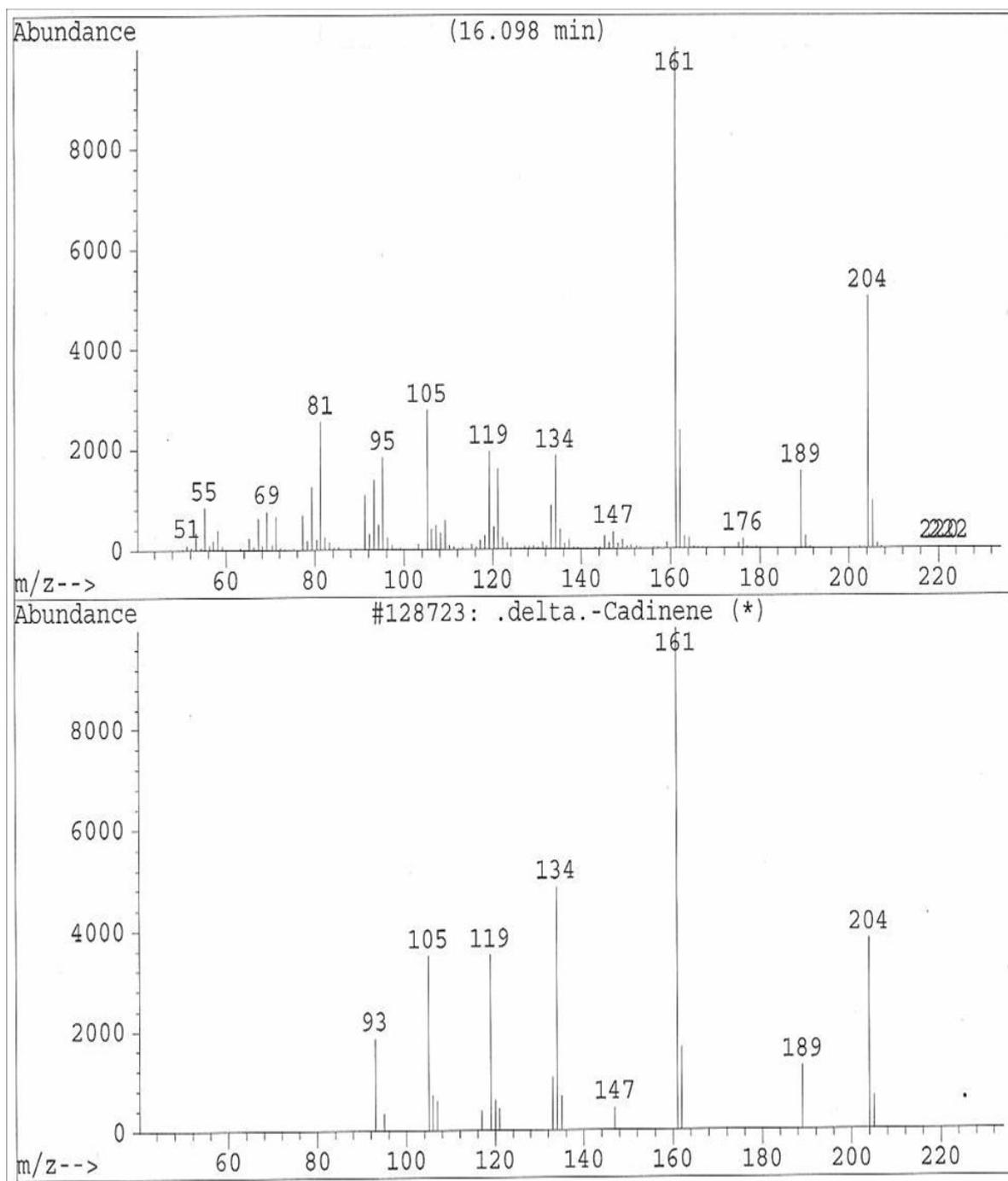
E 6. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *T. erecta* con tiempo de retención de 10.664 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 3- metil-6-(1-metiletil)-2-ciclohexan-1-ona o piperitenona (abajo).



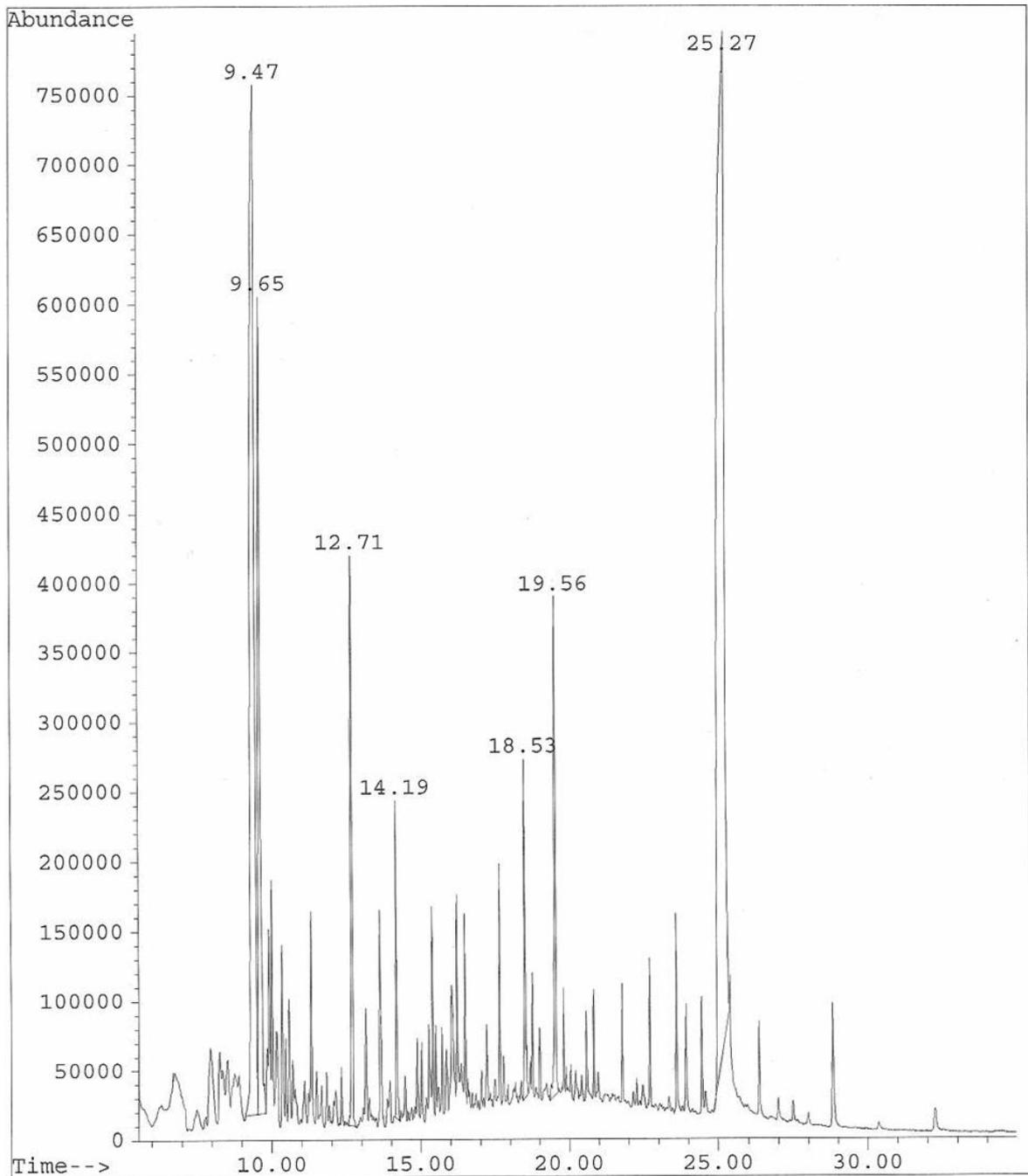
E 7. Espectro de EM del compuesto de los aceites esenciales de *T. erecta* con tiempo de retención de 11.953 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 3-metil-6-(1-metiletilideno)-2-ciclohexan-1-ona (abajo).



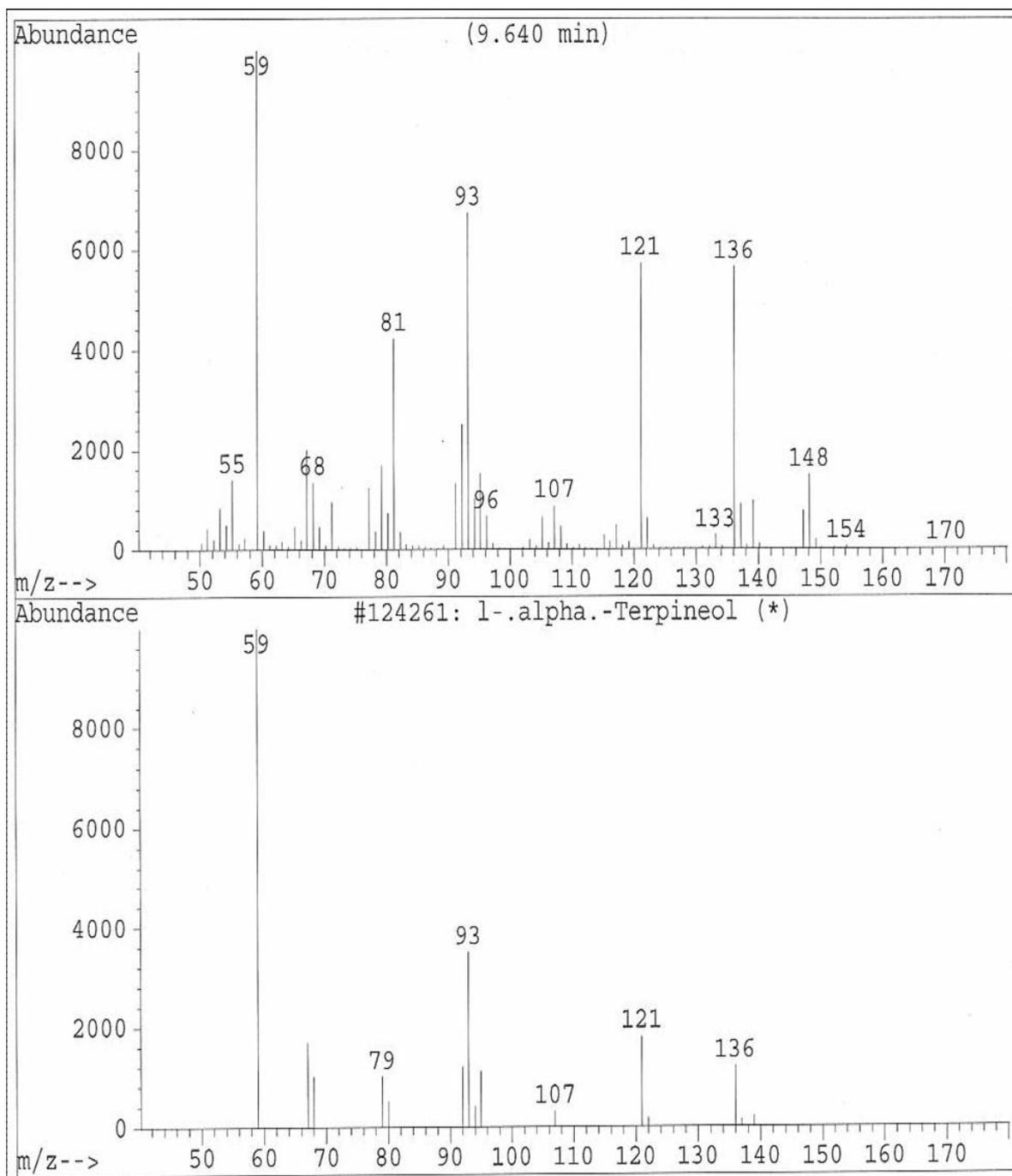
C 4. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Zaluzania triloba*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min.



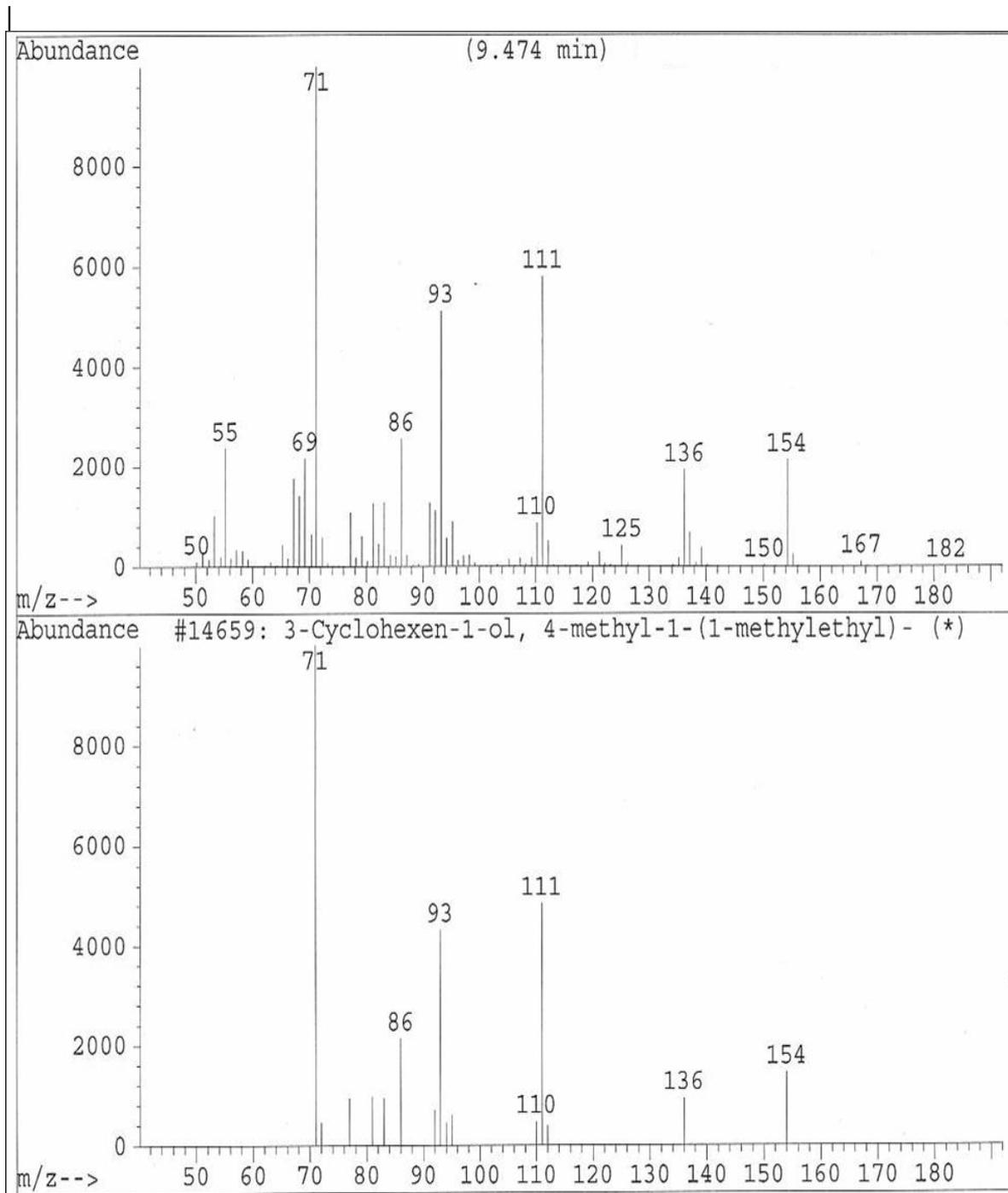
E 8. Espectro de EM del compuesto de los aceites esenciales de *Z. triloba* con tiempo de retención de 16.098 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a delta-cadineno (abajo).



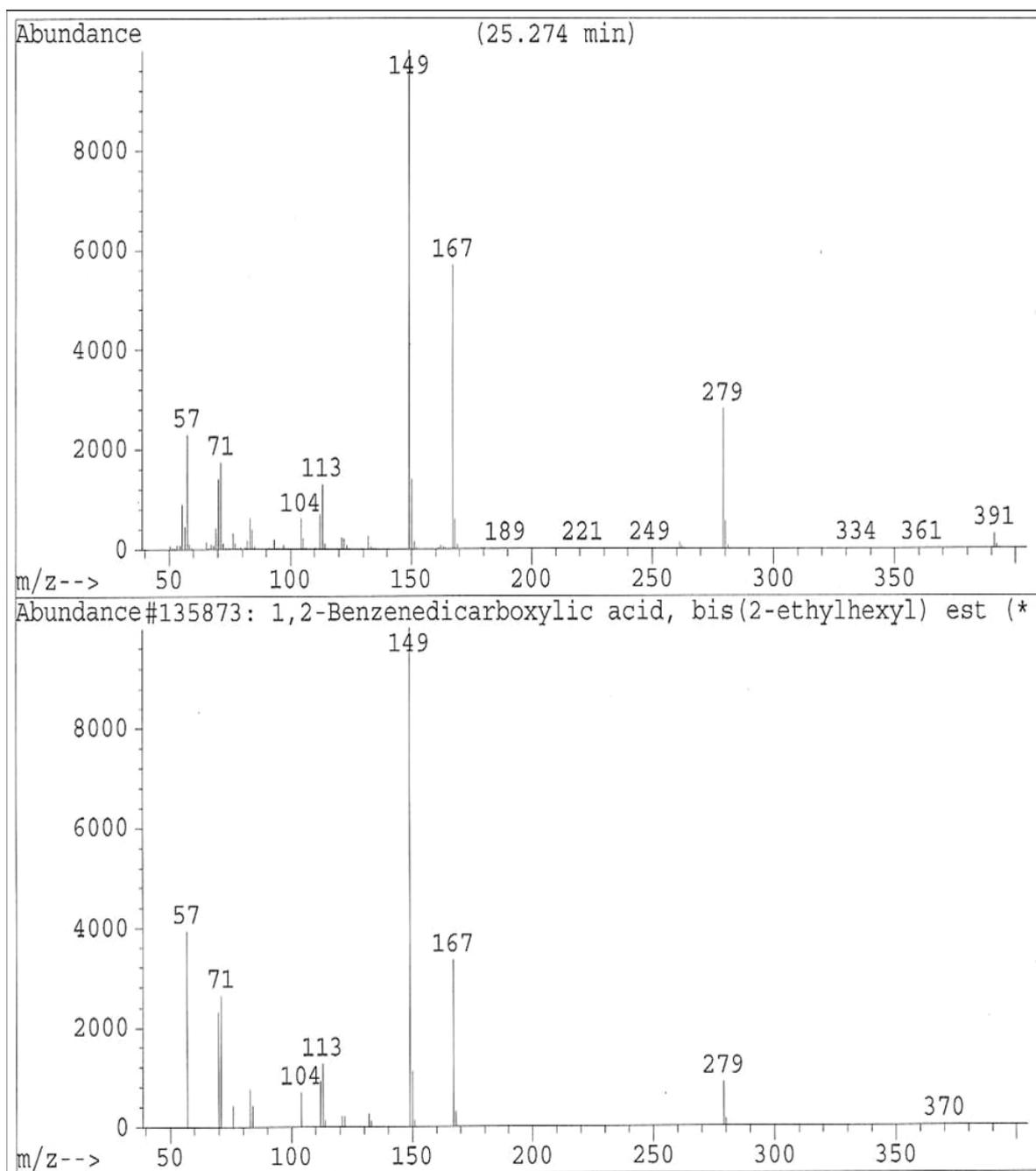
C 5. Cromatograma de CG/EM de los aceites esenciales de *Liquidambar macrophylla*, donde se utilizó una columna capilar 5 % metil fenil silicón de 30 m x 0.25 mm, como fase móvil gas helio con flujo de 1.0 ml/min.



E 9. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *L. macrophylla* con tiempo de retención de 9.640 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1-alfa-terpineol (abajo).



E 10. Espectro de EM del compuesto de los aceites de *L. macrophylla* con tiempo de retención de 9.474 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a terpinen-4-ol (abajo).



E 11. Espectro de EM del compuesto los aceites de *L. macrophylla* con tiempo de retención de 25.274 (arriba), disuelto en éter etílico utilizando la técnica de ionización por impacto electrónico con una energía de 70 eV, comparado con un espectro de la biblioteca digital del cromatógrafo que corresponde a 1,2-benceno ácido dicarboxílico bis (2-etilhexil) ester (abajo).

Anexo H1. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales totales de las especies estudiadas.

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.473	24	50	.000

ANOVA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	71083.108	24	2961.796	12.403	.000
Dentro de los grupos	11939.889	50	238.798		
Total	83022.997	74			

Anexo H2. Prueba de homogeneidad de varianza para *Sitophilus zeamais* y los aceites esenciales totales de las especies estudiadas.

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.701	19	40	.000

ANOVA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	8889.441	19	467.865	2.942	.002
Dentro de los grupos	6360.505	40	159.013		
Total	15249.946	59			

Anexo H3. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Artemisia ludoviciana* spp. mexicana

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.096	18	38	.000

ANOVA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	17338.364	18	963.242	5.961	.000
Dentro de los grupos	6140.136	38	161.583		
Total	23478.500	56			

Anexo H4. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Tagetes erecta*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.446	16	34	.000

ANOVA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	23115.802	16	1444.738	6.739	.000
Dentro de los grupos	7289.536	34	214.398		
Total	30405.338	50			

Anexo H5. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Zaluzania triloba*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.053	8	18	.000

ANOVA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	30138.701	8	3767.338	36.596	.000
Dentro de los grupos	1853.002	18	102.945		
Total	31991.702	26			

Anexo H6. Prueba de homogeneidad de varianza para *Drosophila melanogaster* y los aceites esenciales de los órganos de *Liquidambar macrophylla*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.296	9	20	.000

ANOVA

	Suma de cuadrados	df	Cuadrados medios	F	Sig.
Entre grupos	11107.500	9	1234.167	13.713	.000
Dentro de los grupos	1800.000	20	90.000		
Total	12907.500	29			