

97  
290



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

VOLATILES DE Aristolochia orbicularis. SU EFECTO  
COMO ALOMONA EN DOS ESPECIES DE INSECTOS  
DE IMPORTANCIA ECONOMICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

ROSA MARIA GUILLEN TORRES



FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR  
1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrin Baule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:  
**Volátiles de Aristolochla orbicularis. Su efecto como alomona  
en dos especies de insectos de importancia económica.**  
realizado por **Rosa María Guillén Torres**  
con número de cuenta **8338929-2**, pasante de la carrera de **Biología**  
Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Dra. Martha Eugenia Albores Velasco

Propietario

M. en C. Hella Reyna Osuna Fernández

Propietario

Biol. María Guadalupe Barajas Guzmán

Suplente

Biol. Blanca Estela Mejía Recamier

Suplente

M. en C. Armando Gómez Campos

FACULTAD DE CIENCIAS

M. en C. Alejandro Martínez Mena

COORDINACIÓN GENERAL  
DE BIOLOGÍA

*Los máximos logros al principio y por un tiempo son un sueño.  
El roble duerme en la simiente; el ave aguarda en el huevo;  
y en la visión más elevada del alma, un ángel empieza a despertar.  
Los sueños son la semillas de las realidades.*

*James Allen*

DEDICATORIA

*A DIOS:*

*Por concederme serenidad para aceptar las cosas que no puedo cambiar, valor para cambiar las que sí puedo y sabiduría para comprender la diferencia.*

*A MI MAESTRA:*

*Por iniciar la aventura de darme la vida.*

*A MIS HERMANAS:*

*Chepina, Lulú, Isa e Irma por creer en mí como hermanas y amigas.*

*A MIS HERMANOS:*

*Fili, Valé, José, Jamás, Manuel, Vicente, Ray y Ciri por interesarse y apoyarme en mis proyectos.*

*A TODOS MIS SOBRINOS:*

*Desearoles que realicen sus sueños y en especial a Diana, Connie, Dante, Rodrigo, Vero y José Luis por ser mis amigos y hermanos.*

*A MIS PEQUEÑOS SOBRINOS:*

*Anita, Monse, Ivan y Josue, por lo que me dan con su sonrisa.*

*A TODOS MIS AMIGOS: Por serlo y en especial a Tede, Hortensia,  
Angelica, Lupita, Sarita, Bere y Erika por los buenos momentos compartidos y por  
confiarme su amistad.*

*A REIMELA:*

*Por enseñarme el valor de la gran amistad.*

*A LUPELA:*

*Por permitirme ser su amiga y apoyarme en todo momento.*

*A CRISTINA:*

*Por ser mi amiga a pesar de la distancia.*

## *AGRADECIMIENTOS*



A la Dra. Martha E. Albores Velasco por la dirección y apoyo en la realización del trabajo de tesis.

A cada uno de los integrantes del jurado por la revisión y sugerencias que enriquecieron mi trabajo :

M. en C. Reyna E. Osuna Fernández

Biol. Ma. Guadalupe Barajas Guzmán

Biol. Blanca E. Mejía Recamier

M. en C. Armando Gómez Campos

Al Lic. Hector Linares Rodríguez por el apoyo técnico brindado.

Al Biol. Jorge Peña Ocampo por la elaboración de los dibujos de los insectos.

Al Ing. José Fidel Castañeda Lugo por la elaboración de las gráficas.

Al Ing. Juan Manuel Trejo Medina por la elaboración de mapas y diagramas.

A Don Feliz Bautista y a Don Abundio Rifa por coleccionar y compartir conmigo sus conocimientos sobre *Aristolochia orbicularis*.

A la Q. Elba Rojas Escudero por la realización de la cromatografía de gases de las muestras de aceite esencial obtenidas y por sus acertados comentarios.

Al Biol. Rodolfo Noriega Trejo por enseñarme a conocer a *Aristolochia orbicularis*.

A la PDB Rocío López Mendoza por la identificación de la abeja.

A la Q. Selma S. Sosa Sevilla y Q. F. B. María Rosa por sus consejos y apoyo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser miembro activo de su alumnado.

A GHI Accesorios Industriales S.A. de C. V. por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios.

*A la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química de la ULM por la confianza y el apoyo brindado al trabajo realizado en el departamento de Química Orgánica en el laboratorio 202.*

*A la Dra. Alicia Brochi Franco y al Dr. Guillermo Laguna-Hernández del laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias ULM por las facilidades brindadas para la colecta de Aristolochia orbiculata en Xochipala Guerrero.*

*A los pobladores de Xochipala Guerrero por compartir sus conocimientos medicinales de su mágica vegetación.*

INDICE

PAGINAS

RESUMEN.....	1
ANTECEDENTES.....	2
1.1.- Importancia del maíz como alimento.....	2
1.2.- Plagas de maíz almacenado.....	2
1.2.1.- Medidas de control de plagas.....	4
1.2.1.1.- Métodos químicos.....	4
1.2.1.2.- Métodos físicos.....	4
1.2.1.3.- Métodos biológicos.....	4
1.3.- Importancia de la clase insecta para el hombre.....	5
1.4.- Generalidades de insectos.....	5
1.4.1.- Orden Coleoptera.....	6
1.4.1.1.- <u>Sitophilus zeamais</u> .....	6
1.4.1.2.- <u>Tribolium castaneum</u> .....	8
1.5.- El uso de plantas como insecticidas en México y el resto del mundo.....	10
1.6.- Familia Aristolochiaceae Juss Gen. Pl. 72. 1789.....	12
1.6.1.- <u>Aristolochia</u> L. Sp Pl 960 1953.....	13
1.6.2.- <u>Aristolochia orbicularis</u> (Duchr).....	14
1.7.- Aislamiento de volátiles.....	16
1.7.1.- Análisis de los volátiles en el espacio de cabeza o espacio libre ("headspace").....	16
1.7.2.- Destilación por arrastre de vapor a presión atmosférica...17	
1.7.3.- Extracción con fluidos supercríticos.....	17

1.7.4.- Adsorción.....	17
1.7.5.- Cromatografía de gases.....	17
1.7.6.- Espectroscopía de masas.....	18
OBJETIVO.....	19
MATERIALES Y METODOS.....	19
2.1.- Recolección de <u>Aristolochia orbicularis</u> .....	21
2.2.- Cultivo de insectos.....	21
2.3.- Extracción de volátiles.....	23
2.3.1.- Descripción del sistema de Schultz.....	24
2.4.- Cromatografía en columna.....	24
2.5.- Cromatografía de gases.....	24
2.6.- Bioensayo.....	26
2.6.1.- Olfatómetro tipo Rauscher.....	26
2.6.2.- Modificación al olfatómetro tipo Rauscher.....	26
2.6.3.- Olfatómetro de madera.....	26
3.0.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	27
3.1.- Efecto de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>S. zeamais</u> .....	27
3.1.1.- Actividad de los volátiles.....	31
3.1.3.- Actividad de las fracciones.....	33
3.1.4.- Olfatómetro de madera.....	39
3.2.- Efecto de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>T. castaneum</u> .....	42
Composición del aceite esencial.....	48
4.0.- CONCLUSIONES.....	49
5.0.- BIBLIOGRAFIA.....	50

## INDICE DE FIGURAS

PAGINAS

1.- <u>Sitophilus zeamais</u> .....	7
2.- <u>Tribolium castaneum</u> .....	9
3.- Derivados químicos de algunas <u>Aristolochias</u> .....	12
4.- <u>Aristolochia orbicularis</u> (Duch) .....	15
5.- Diagrama de flujo del método experimental.....	20
6.- Zona de colecta Xochipala Guerrero.....	22
7.- Sistema de Schultz.....	25
8.- Efecto de distintas dosis de la raíz (g) de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>S. zeamais</u> .....	29
9.- Efecto de las fracciones del aceite esencial de la raíz de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>S. zeamais</u> .....	34
10.-Efecto de la raíz de <u>A. orbicularis</u> con y sin tratamiento sobre <u>S. zeamais</u> .....	38
11.-Distintas dosis de la raíz de <u>A. orbicularis</u> en el olfatómetro de madera.....	40
12.- Efecto de la raíz y el aceite de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>T. castaneum</u> .....	44
13.- Efecto atrayente de las fracciones del aceite esencial de la raíz de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>T. castaneum</u> .....	46

INDICE DE TABLAS

PAGINAS

1.- Especies de <u>Aristolochia</u> utilizadas para el control de algunas especies de insectos comunes.....	11
2.- Distribución de insectos sin material de prueba.....	27
3.- Efecto de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>S. zeamais</u> a diferentes dosis de raíz.....	28
4.- Bioensayos con raíz seca de las dos zonas de colecta.....	30
5.- Contenido de aceite.....	31
6.- Bioensayos con volátiles de aceite esencial.....	31
7.- Volátiles del aceite esencial de las dos zonas de colecta....	32
8.- Índice de repelencia de cada una de las 9 fracciones del aceite esencial sobre <u>S. zeamais</u> .....	33
9.- Volátiles de las fracciones con mayor actividad repelente....	35
10.- Comparación del TR del aceite de <u>A. orbicularis</u> con y sin tratamiento.....	36
11.- Bioensayos con raíz de <u>A. orbicularis</u> con tratamiento sobre <u>S. zeamais</u> .....	37
12.- Distribución de insectos en el matraz kitasato con maíz como blanco.....	39
13.- Distribución de insectos en las cajas de Petri con maíz....	41
14.- Distribución de insectos sin material de prueba .....	42
15.- Efecto de <u>A. orbicularis</u> sobre <u>T. castaneum</u> .....	43
16.- Efecto del aceite esencial sobre <u>T. castaneum</u> .....	43
17.- Índice de repelencia en cada una de las fracciones del aceite esencial sobre <u>T. castaneum</u> .....	45
18.- Volátiles de las fracciones con mayor efecto repelente.....	47
19.- Efecto del aceite esencial con tratamiento sobre <u>T. castaneum</u> .....	47
20.- Índice de repelencia en bioensayos con maíz como blanco....	48

## RESUMEN

La búsqueda de productos naturales que contribuyan al control de plagas agrícolas ha adquirido gran importancia en los últimos años, debido a la preocupación internacional que existe por la destrucción del ambiente producido por el uso de pesticidas.

Basándose en estudios etnobotánicos, realizados por el M. en C. Armando Gómez Campos del Laboratorio de de Plantas Vasculares del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias UNAM, surgió el interés de estudiar el efecto de los volátiles de la raíz de *Aristolochia orbicularis* sobre el comportamiento de dos especies de insectos de importancia económica: *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum*, como posibilidad de contribuir al control natural de insectos nocivos a la agricultura mexicana, usando la raíz de esta planta.

Tanto la raíz fresca como la raíz seca de *A. orbicularis*, colectadas en dos zonas de Xochipala Guerrero México, produjeron un efecto repelente sobre *S. zeamais* y *T. castaneum*. Este efecto se probó en un olfatómetro tipo Rauscher con muestras de raíz y mezcla de raíz con maíz.

El aislamiento del aceite esencial de *A. orbicularis* se llevó a cabo utilizando un aparato de Shultz modificado. El contenido de aceite de raíz colectada en la zona baja de Xochipala fue mayor que el de la zona alta, el cual produjo un menor efecto repelente sobre *S. zeamais*.

Se fraccionó el aceite por cromatografía en columna y se realizaron bioensayos de repelencia con cada una de las fracciones. Algunas de éstas fueron más repelentes que el aceite completo, mientras que las fracciones más volátiles fueron atrayentes. La eliminación de estas últimas por calentamiento de la raíz a 30°C durante 2 hrs, modificó el efecto repelente de la raíz. Algunos de los componentes del aceite fueron identificados por el Dr. Rauscher, de la Universidad Erlangen-Nürnberg, Alemania, mediante una cromatografía de gases-espectrometría de masas.

Algunos de los componentes más abundantes en las fracciones que tienen un mayor efecto repelente son: acetato de carvilo,  $\beta$ -ionona, formiato de bornilo, acetato de terpinilo, dihidro  $\beta$ -ionona. Sin embargo, algunos componentes no se han identificado.

## 1.0.- ANTECEDENTES

### 1.1.- IMPORTANCIA DEL MAIZ COMO ALIMENTO.

El maíz es considerado, después del arroz y del trigo, el tercer cereal más consumido e importante del mundo; constituye el alimento básico de mayor importancia en México y en casi todos los países de América. En las culturas prehispánicas el maíz llegó a constituir el cultivo fundamental de la población y actualmente cubre alrededor del 51% del área total que se encuentra bajo cultivo en México (Shurtleff 1980). La mayoría de los campesinos que cuentan con una porción de tierra, siembran este grano aunque sea para su propio consumo, ésto se debe a la sorprendente capacidad de adaptación del maíz y a su arraigo dentro de la cultura mexicana (Forson, 1986).

### 1.2.- PLAGAS DE MAIZ ALMACENADO.

El hombre siempre ha tenido que depender de las plantas para su alimentación, especialmente de las semillas, granos y sus derivados; por lo que ha tenido que enfrentar una serie de problemas que surgen durante la producción, el abasto y almacenamiento de granos y semillas (Arenas, 1994).

La Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación, (FAO), estima que el 5% de las cosechas se pierden antes de su consumo, siendo mayor la pérdida en los países templados o fríos. La magnitud de las pérdidas varía en cada país. En México se pierde hasta un 25% de la producción total de maíz, trigo y frijol (Ramírez, 1981).

La planta de maíz es susceptible de tener enfermedades o de ser atacada por plagas que reducen la producción y la calidad de cosecha (Shurtleff, 1980).

En muchos de los países subtropicales y tropicales, algunos insectos invaden los granos antes de la cosecha.

En México, la infestación causada por insectos de los granos en el campo antes de la cosecha tiene mucha importancia, tanto en la Meseta Central como en las zonas tropicales del país (Ramírez, 1981). Destacan por su capacidad de destrucción: *Colaspis chapalensis* (catarinita del maíz), la cual se alimenta de la raíz de la planta; *Dalbulus maidis* (chicharrita del maíz), vector de virus como el rayado fino del maíz y *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero), que perfora hojas jóvenes de la planta sin permitirle desarrollarse (Moron, 1988).



Después de la cosecha, las principales causas de las pérdidas en cantidad y calidad de los granos almacenados y semillas son: roedores, insectos, ácaros, hongos y microorganismos.

El problema de la conservación de granos y de las semillas en nuestro país reviste mayor importancia cuando se analiza la carencia de buenos almacenes y de medidas sanitarias para el almacenaje; especialmente en las áreas bajas, cálidas y húmedas del país; las cuales propician la infestación por insectos, hongos y roedores que dañan al grano.

Los insectos en granos y sus productos son una amenaza por la depredación del alimento y por que hacen peligrar la salud pública, causando dos tipos de daños a los granos y semillas almacenados: el primero consiste en la destrucción y consumo del grano por adultos y estadios larvales con fines alimenticios y de oviposición infestando al grano debido a sus excrementos y cadáveres, haciéndolo inadecuado para el consumo humano y causando posteriores infecciones por hongos y otros microorganismos. Se ha visto recientemente que algunos insectos de granos almacenados acarrear en su intestino bacterias patógenas potencialmente dañinas (*Salmonella*, *Streptococcus hemolítica*, *Escherichia coli*), y virus capaces de infestar al hombre o a sus animales domésticos. El segundo tipo de deterioro es producido por la anormalidad del grano y por el metabolismo de los insectos que lo infestan. Ambos tipos de daños independientemente de otros factores, determinan la calidad alimenticia, el valor económico y el poder germinativo de los granos y semillas.

De las 700,000 a 1500,000 especies conocidas de insectos, aproximadamente 100 en el mundo son responsables de los daños a alimentos almacenados; en México, tenemos más de 25 de éstas especies. En nuestro país las principales plagas de insectos de granos almacenados en maíz son: *Sitophilus zeamais*, *Prostephanus truncatus*, *Tribolium castaneum* y *Sitotroga cerealella*; en frijol, *Acanthoscelides obtectus* y *Zabrotes subfasciatus*; y en trigo, arroz, sorgo y cebada, *Rhyzoperta dominica*.

Se pueden clasificar a las plagas de productos almacenados como primarias y secundarias. Las primarias son los insectos que atacan al grano entero, limpio y no dañado, por lo que tienen mayor importancia económica. Las secundarias pueden atacar únicamente el grano maltratado por una plaga primaria o por el hombre cuando hay recolecta.

El desarrollo de los insectos es mucho más rápido cuando humedad y temperatura actúan positivamente, siendo éstos los factores más importantes en la rapidez de multiplicación de plagas (Ramírez, 1981).

### 1.2.1.-MEDIDAS DE CONTROL DE PLAGAS.

Hay tres diferentes métodos de control de plagas de insectos:

1.2.1.1.- Métodos químicos. Estos métodos consisten en la eliminación de los organismos perjudiciales o en la prevención del daño que causan mediante materiales venenosos (insecticidas), o sustancias atrayentes o repelentes. El control químico es considerado por muchos como el método básico de la entomología económica aplicada, por la facilidad y la frecuencia de su empleo. El factor limitante para el uso de insecticidas en granos de almacen es que los productos que se utilizan no debe ser tóxicos para animales de sangre caliente y no deben dañar el poder germinativo del grano.

1.2.1.2.- Métodos físicos. Incluyen medios mecánicos como el cimbrado, el tamizado, la selección de granos, la ventilación y los procesos de altas o bajas temperaturas o radiaciones de alta energía. La desventaja del uso de estos procesos es que requieren maquinaria de alto costo y un operador especializado para manejarlos; la ventaja es que no dejan residuos tóxicos para quien consume el grano y las alteraciones en el valor nutritivo del grano son mínimas.

1.2.1.3.- Métodos biológicos. En este método de control biológico existen dos alternativas: a) Uso de parásitos (virus, bacterias, hongos y nemátodos) los cuales sólo deben causar daño a los insectos o depredadores de granos almacenados y no a los consumidores; por ejemplo, la avispa adulta *Ansopteromalus calandrae* que oviposita sus huevecillos sobre las larvas de los gorgojos de los graneros y al eclosionar la larva de la avispa se alimenta de los gorgojos sin darles oportunidad de llegar a la fase adulta, y b) Producción de variedades de semillas resistentes al ataque de plagas.

Las variedades del maíz, trigo, frijol y otros granos y semillas presentan diferentes grados de susceptibilidad a las plagas. Las investigaciones sobre esta materia requieren aún muchos estudios de genetistas y fitopatólogos, sin embargo, ahora se ha encontrado que los granos de maíz duros y de alto contenido proteico son más resistentes al gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* y a la palomilla dorada de los cereales *Sitotroga cerealella*, dos de las más importantes plagas de granos de maíz almacenados (Ramírez, 1981).

### 1.3.- IMPORTANCIA DE LA CLASE INSECTA PARA EL HOMBRE

Los insectos han vivido en la Tierra cerca de 400 millones de años y conviviendo con el hombre 2 millones de años aproximadamente (Campbell, 1994). Durante este intervalo de tiempo, los insectos fueron evolucionando y tomando varias direcciones en su adaptación a los diferentes hábitats que les ofrecía el planeta.

Los insectos son el grupo de animales de mayor distribución en el mundo, y gran parte de ellos están relacionados con el hombre: algunos insectos polinizan cultivos, otras especies proveen al hombre de miel, cera, seda y otros productos de importancia económica; otros son utilizados como alimento de aves, o son importantes en medicina y veterinaria, ya que son vectores de enfermedades al hombre y al ganado y muchos de ellos destruyen cosechas de cereales, frutos, vegetales, algodón, tabaco, etc. Algunos grupos étnicos utilizan a los insectos como alimento básico por la gran cantidad de proteínas que presentan y por el arraigo que tienen en su cultura.

Biológicamente, los insectos juegan un papel primordial como alimento de otros insectos y animales como peces, reptiles y mamíferos. Algunos insectos del orden Coleoptera tienen la importancia de servir como enterradores de animales muertos. (Borror, 1976)

Debido a lo elevado de sus poblaciones y a la incomparable variedad de especies, los insectos se han adaptado para alimentarse de las diversas clases de materia orgánica que hay en el mundo, ya sea de origen vegetal o animal, de seres vivos o muertos, de sustancias secas o en descomposición, por lo que los daños que causan a plantas y animales en general, así como a plantas de importancia económica en particular, en las diferentes fases de su desarrollo, provocan pérdidas económicas grandes por la reducción en la producción y calidad de los productos (Robles, 1983).

### 1.4.- GENERALIDADES DE INSECTOS

La diversidad presente en la estructura de los insectos, nos permite hacer una diagnosis en conjunto; sin embargo, existen características que podrían separar a los insectos de otros artrópodos, como son la presencia de tres tagmas: cabeza, torax y abdomen;

Cabeza: en la que se encuentran un par de antenas con funciones olfativas y táctiles, un par de ojos compuestos capacitados para la percepción de imágenes y colores; uno o tres ocelos u ojos sencillos, utilizados para la percepción luminosa, y un aparato bucal, modificado de acuerdo al tipo particular de alimento (masticador, succionador, picador succionador, lamedor masticador, etc.), pero formado en conjunto por placas y apéndices articulados como el labro, las mandíbulas y las maxilas.

Tórax: formado por la fusión de tres segmentos; cada uno con un par de patas articuladas, las cuales presentan diversas formas de acuerdo con su tipo de locomoción: carrera, salto, excavación, natación, etc. En uno de los segmentos se encuentran las alas, estructuras adaptadas para el vuelo, las cuales pueden estar revestidas por sedas sencillas y escamas.

Abdomen, en el que sólo persisten apéndices muy modificados como auxiliares para la reproducción y la oviposición, y se localiza en las proximidades de los orificios anal y genital.

#### 1.4.1.- ORDEN COLEOPTERA

Los coleópteros conocidos popularmente como escarabajos, mayates, picudos, catarinitas etc, pertenecen al orden con mayor número de individuos, abarca el 40% dentro de la clase Insecta (Borror, 1976), teniéndose registradas en el mundo 500,000 especies (Campbell, 1994) y citadas para México más de 12,000 especies incluidas en 100 familias (Morón, 1988).

Estos insectos se caracterizan por presentar un aparato bucal de tipo masticador bien desarrollado. El primer par de alas está endurecido y durante el reposo cubre las alas metatorácicas y al dorso del abdomen. Su forma y tamaño varía de acuerdo al hábitat en que se encuentren. Pueden encontrarse escarabajos desde 2 mm hasta 130 mm en zonas tropicales (Borror, 1976).

El ciclo de vida y hábitos de los coleópteros son muy variados, los hay carnívoros, fitófagos, xilófagos, necrófagos y coprófagos. Tienen importancia económica como destructores del follaje de numerosos cultivos, como barrenadores de madera y productos almacenados, como depredadores de otras especies dañinas y como degradadores de materia vegetal y animal (Morón, 1988).

##### 1.4.1.1.- *Sitophilus zeamais*

Este insecto es conocido con el nombre común de gorgojo del maíz o picudo del maíz, presenta una cabeza provista de una larga trompa y antenas cortas; los adultos miden de 2.5 a 4 mm de longitud y su color varía de café a negro. Se pueden encontrar en todo el mundo, pero predominan en las regiones subtropicales y tropicales (fig. 1).



Figura 1. Vista dorsal de *Sitophilus zeamais* (Most)  
(Coleoptera: Curculionidae)

Estos insectos, pertenecientes a la Familia Curculionidae, son de los escarabajos de mayor importancia económica. Son buenos voladores, y pueden infestar al grano desde el campo.

*S. zeamais*, junto con otras especies de escarabajos del mismo género, pueden representar desde un 2% hasta un 100% de los insectos encontrados en los granos almacenados en México, con una frecuencia de aparición en las bodegas superior al 50% (Morón, 1988). Esta especie se considera cosmopolita con una amplia distribución en México, Centro y Sur de América. En condiciones óptimas ( 24-30°C y 70% HR), las hembras excavan un hueco en cualquier parte de los granos, donde depositan sus huevecillos (300-400) que posteriormente cubren con una secreción.

Presenta tres estadios larvales, que se alimentan del contenido del grano, y después de 35 días, tan pronto emerge el adulto, se encuentra en condiciones para copular. Los adultos son capaces de vivir por 4 a 5 meses, así como de volar largas distancias (Hill, 1978). Se le considera plaga primaria ya que el adulto es capaz de ovipositar en los granos sanos, y las larvas de alimentarse de su interior (Ramírez, 1981).

#### 1.4.1.2.- *Tribolium castaneum*

Se conoce como escarabajo rojo de la harina, tiene el cuerpo alargado y un poco aplastado, de color pardo rojizo y de escasos 3 a 4 mm (Morón, 1988) (Fig.2). Perteneciente a la Familia Tenebrionidae con más de 10 000 especies, habita en granos de maíz almacenado. Su alimento de preferencia son las harinas y sus derivados. Las hembras depositan los huevecillos (los cuales son pequeños y pegajosos) sobre el material alimenticio, en donde eclosionan al cabo de 5 a 12 días, para dar origen al primero de los seis estadios larvales, los cuales transcurren durante 30 a 120 días a 30°C (Hill, 1978).

Los adultos pueden vivir desde un año hasta casi cuatro años en condiciones experimentales. Las hembras son capaces de producir desde 450 hasta 1000 huevos durante su vida. Pueden existir cuatro o cinco generaciones anuales en almacenes con temperaturas moderadas o altas, y es frecuente encontrar simultáneamente todos los estados de desarrollo en cualquier época del año (Morón, 1988).

A pesar de que es cosmopolita, se distribuye con frecuencia en países con clima templado. Su ciclo de vida desde huevo hasta adulto es de 35 días a una temperatura de 30°C. Los adultos tienen la capacidad de volar por largos tiempos (Hill, 1978).

Se considera una de las principales plagas de granos almacenados, así como destructor de semillas y harinas, o de plántulas y raíces en México (Morón, 1988).

Está clasificado como plaga secundaria, ya que sólo es capaz de infestar grano que ya ha sido semidestruido por una plaga primaria tanto de harinas como de granos (Ramírez, 1981).

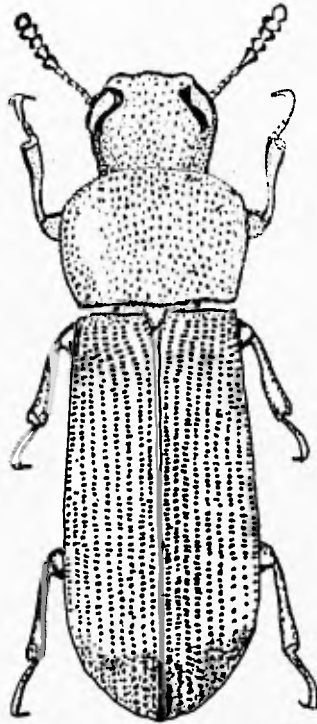


Figura 2. Vista dorsal de *Tribolium castaneum* (Herbst)  
(Coleoptera: Tenebrionidae).

## 1.5.- EL USO DE PLANTAS COMO INSECTICIDAS EN MEXICO Y EL RESTO DEL MUNDO

En la historia de la humanidad, las plantas han ocupado un lugar importante; representan para el hombre no sólo una fuente de alimento, sino también materia para construir viviendas, armas, diversos utensilios, colorantes y medicinas (Arenas, 1984). De los usos menos divulgados de las plantas, está su utilización como insecticidas. Este aspecto tiene vital importancia para México, dada la relativa dependencia tecnológica que tenemos en la adquisición de agroquímicos y a la gran diversidad biológica del país.

Existen muchas plantas cuyos extractos poseen propiedades insecticidas; sin embargo, desde el punto de vista comercial, pocas se han aprovechado. A continuación se describen algunos ejemplos:

Demócrito mencionó algunos avances en el control de plagas con aceite de olivo, el cual rociado sobre las plantas detenía el ataque de las orugas. (Velez, 1977).

El extracto de hojas de tabaco (nicotina) ha sido usado en aspersiones para controlar insectos como al piojo de las plantas, sin causar daño al follaje desde hace varios siglos.

En Malaya, los jardineros chinos, empleaban un cocimiento de *Derris* para el combate de insectos en su cultivo de coles y en los árboles de nuez moscada, procedimiento que se sigue utilizando hasta la fecha.

De plantas venenosas para peces, se han aislado una gran cantidad de sustancias químicas, entre las cuales se encuentran la rotenona como el compuesto principal. Este compuesto se acumula en las raíces de alrededor de 69 especies de leguminosas del género *Derris* y *Lonchocarpus* que crece en las regiones tropicales, y sólo tienen importancia comercial por su contenido en rotenona *Derris elliptica* (Benth), *Lonchocarpus nicou* (DC.) y *Lonchocarpus utilis* (A.C. Smith) que se cultivan en América, especialmente en Perú, Brasil y Venezuela.

La cebadilla, *Schoenocaulon officinale*, (A. Gray) es una planta de la familia Liliaceae la cual incluye 20 especies que se encuentran distribuidas especialmente en México, América Central y Sudamérica, las semillas pulverizadas se han empleado durante muchos años como polvos piojicidas por los nativos de Centro y Sudamérica. Tanto el polvo como los extractos de estas semillas tienen importancia como insecticidas para el control de himenópteros y homópteros que se alimentan de las plantas, así como en el combate de los trips. Se considera que el principio tóxico de la cebadilla está constituido por una mezcla de alcaloides que se agrupan bajo los nombres de veratrina y veratridina (Wilkinson, 1976; Lagunes, 1982). Los polvos obtenidos de la molienda de los tallos y raíces de la planta *Ryania speciosa*, (Vahl) de la familia Flacourtiaceae que crece en América del Sur, se utilizaron en los años 40's para el combate de algunos insectos (Velez, 1974). Los polvos contienen una serie de alcaloides, entre los que se encuentra como el más importante la



rianodina. El piretro fue usado en Persia y la región del Cáucaso como insecticida durante muchos años. Fue introducido a Yugoslavia en el siglo XIX, de donde fue llevado a Japón, África, América y algunas partes de Europa (McLaughlin, 1973). Se han aislado los principios tóxicos del piretro y se conocen las estructuras químicas de los seis principales componentes, los cuales se llaman colectivamente piretrinas (Elliot *et. al.*, 1973). A pesar de que los extractos obtenidos de las flores que contienen piretro se han utilizado por muchos años, su uso se limita al ámbito doméstico por su gran inestabilidad en el ambiente (Elliott, 1977).

En el caso particular de insectos que destruyen granos de maíz almacenado se han utilizado polvos vegetales de plantas como *Alchemilla procumbens* (Rose), *Fuchsia microphylla* (H. B. & K.), *Guara coccinea* (Bertol), *Hippocratea excelsa* (H. B. & K.), *Larrea tridentata* (Cuville), *Ruellia sp.*, *Solanum nigrum* (Acerb ex Dun), *Tagetes foetidissima* (Hort), *Buddleja cordata* (H. B. & K.) y *Castilleja arvensis* (Cham & Schlecht) para combatir a *Sitophilus zeamais*, plaga primaria de granos almacenados. (Arenas, 1994).

Para *Tribolium castaneum*, plaga secundaria de granos almacenados se han usado *Elephantopus scaber* (Linn) y *Adhatada vasica* (Nees).

Existen otras plantas menos conocidas con propiedades insecticidas, que representan una esperanza futura para el combate de plagas sin elevar el problema de la contaminación que pueden presentar algunos insecticidas orgánicos. Dentro de éstas encontramos a la familias Aristolochiaceae, representada por las tres especies que se muestran en la tabla 1, que han sido probadas como insecticidas naturales en infusiones o suspensiones de las cuales se obtuvo una toxicidad ligera en las especies de insectos reportadas en la misma tabla (Arenas, 1984).

TABLA 1. ESPECIES DE *Aristolochia* UTILIZADAS PARA EL CONTROL DE ALGUNAS ESPECIES DE INSECTOS COMUNES

PLANTA	INSECTO	NOMBRE COMUN
<i>Aristolochia bracteata</i> (Retz)	<i>Musca domestica</i>	Mosca común
<i>Aristolochia brasiliensis</i> (Mart & Zucc)	<i>Blattella germanica</i>	Cucaracha
<i>Aristolochia cymbifera</i> (Mart & Zucc)	<i>Periplaneta americana</i>	Cucaracha común

## 1.6.- FAMILIA: ARISTOLOCHIACEAE Juss. Gen. Pl. 72. 1789.

Las plantas de esta familia son bejucos, lianas, hierbas perennes, arbustos o pequeños árboles, con frecuencia rizomatosos, aromáticos; sus células contienen aceites esenciales dispersos en los tejidos parenquimáticos, tienen nudos trilacunares, sus haces vasculares están dispuestos en anillos, separados por radios medulares anchos, fisurados durante el crecimiento secundario en la formación de radios intervasculares secundarios.

La familia Aristolochiaceae, comprende alrededor de 600 plantas tropicales.

Los géneros *Aristolochia* y *Apanea* se usan como medicamentos. Al género *Aristolochia* pertenecen alrededor de 500 especies en el trópico, subtropico y Mediterráneo. La especie más conocida es *Aristolochia clematilis* (Mier). Todas las Aristoloquias son más o menos aromáticas. El género *Asarum* presenta en su composición química una gran semejanza con las Aristoloquias.

En el aceite esencial de *Asarum* se encuentra principalmente eugenol, metil eugenol, apiol, asarona, elemicina y safrol, junto con algunos terpenos como  $\alpha$  y  $\beta$ -geraniol, y acetato de bornilo.

Características de algunas Aristolochias son la aristolona (Fig. 3), aristolactona (Fig. 3). Producto de las Aristolochias son los ácidos aristolóquicos (Fig. 3), derivados del nitrofenantreno que son uno de los medicamentos más viejos que se conocen como expectorantes y antihelmínticos (Hegnauer, 1966).

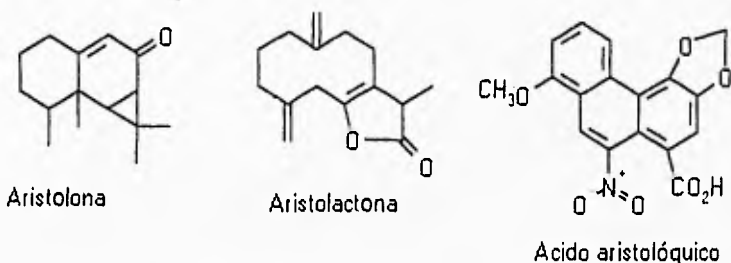


Figura 3. Componentes químicos de algunas *Aristolochias*

La familia se distribuye esencialmente en la región pantropical; algunas especies crecen en zonas templadas. La familia está compuesta por 6 géneros y alrededor de 600 especies, la mayoría pertenecen al género *Aristolochia* así como al género *Asarum*. EL género *Thottea* crece en la parte continental de Asia suroriental y en Malasia; los otros tres géneros son monotípicos y endémicos: *Saruna* de la China, y *Holostylis* y *Euglypha*, del centro de Suramérica. En Colombia, la familia está representada únicamente por el género *Aristolochia*.

### 1.6.1.- *Aristolochia* L. Sp P1. 960 1753

Derivado del griego *Aristos* (el mejor) y *loquios* (perteneciente al nacimiento), ayuda al nacimiento (Schulz,1957), es una planta con gran plasticidad fenotípica, a veces hierbas, subarbustos o arbustos, habitualmente con raíces o rizomas engrosados. Tallos por lo general suberificados cuando maduros. Hojas alternas, dísticas, casi siempre pecioladas y enteras, a veces sésiles, peciolo con zona basal de abscisión. Profilos de los brotes laterales a veces atrofiados y adosados al eje del vástago a manera de estípulas. Inflorescencias tírsicas o racemosas, terminales y frondosas o laterales y bracteosas. (González, 1990).

Algunas especies del género *Aristolochia* se han estudiado en su relación ecológica con algunos insectos; por ejemplo se estudiaron los efectos de la mariposa *Battus phileno* sobre la dinámica poblacional de *Aristolochia reticulata* (Holton, ex Duch), perteneciente a la familia Aristolochiaceae, y se observó que la mariposa ocasionaba un daño del 48% en la pérdida del follaje de la planta. La tasa de crecimiento de la planta y particularmente de las raíces, disminuyó considerablemente, trayendo como consecuencia un desbalance fisiológico, menor absorción de nutrientes que ocasionaron un crecimiento más lento de la planta, lo cual a su vez disminuye las posibilidades de alcanzar la madurez reproductiva y por tanto el éxito reproductivo (Oyama, 1986).

Puede pensarse que los mecanismos de defensa de las plantas ayudan a una disminución en el número poblacional de los insectos, Sin embargo, los animales, al igual que las plantas, han desarrollado diversos mecanismos en su larga evolución orgánica que les ha permitido superar estas fito-barreras. *Aristolochia chilensis* (Miers); es una planta perenne que se localiza en el norte de Chile. La raíz se ha utilizado como medicamento para reducir las secreciones corporales después del parto. Investigadores del Departamento de Química de la Universidad Técnica del Estado Santiago de Chile, observaron que las hembras de *Battus archidamas* miembro de la familia Papilionoidea (Lepidoptera) deposita sus huevecillos en las hojas de *A. chilensis* (Miers); la oruga se alimenta de hojas y tallos de la planta hasta destruirla; se encontró que la oruga aloja ácido aristolóquico en su cuerpo, compuesto tóxico que le protege de sus depredadores.

Los metabolitos secundarios que la oruga adquiere al alimentarse de la planta le proporcionan una acción bacteriana y microbial ante parásitos y desde luego ahuyentador de depredadores (Urzúa A., *et. al.* 1982).

#### 1.6.2.- *Aristolochia orbicularis* (Duchr)

Es una planta nativa de México considerada como hierba rastrera (fig. 4) que crece abundantemente en Xochipala, en la región centro del estado de Guerrero; se conoce como Tlacopatli o flor de pato y su raíz se usa como medicamento para dolor estomacal en la región.

El clima para Xochipala, según García, (1988), corresponde al de la estación ubicada en el Municipio de Eduardo Neri, y es: Bs<sub>1</sub> (h')w(w) y gw", clima seco y cálido con una corriente P/T de 28.1, temperatura media anual de 24.3°C, régimen de lluvia de verano y precipitación de 686 mm. Los suelos de la región son derivados de caliza y lutitas calcáreas (Gaona, 1991).

Debido a la variación en altitud, en la comunidad se encuentran tres tipos de vegetación:

De 500 a 1450 m. s. n. m. se localiza el Bosque Tropical Caducifolio, de 1690 a 2100 m. s. n. m. se encuentra el Bosque de Quercus y entre las dos zonas un ecotono de transición (Rzedowski, 1978).

La planta fue identificada por el Dr. Fausto González Garavito del Instituto de Ciencias Naturales Bogotá Colombia y colectada por el M. en C. Armando Gómez Campos de la Facultad de Ciencia UNAM. Actualmente se encuentran ejemplares en el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME), con número de registro AG-1636 y AG-1881 y en el herbario del Jardín Botánico de la UNAM, (MEXU), donde están registradas para otros estados de la republica:

Huetamo, Michoacan (número de registro 2953) y Tanjasnec, San Antonio municipio; S. L. P. (número de registro 1959).

Las *Aristolochias* se han usado en medicina tradicional desde épocas primitivas como expectorantes y antihelmínticos (Hegnauer, 1966).

El uso de vegetales y minerales como agentes de control de insectos en nuestro país tiene orígenes muy antiguos (Arenas, 1994). En la región de Xochipala se ha sugerido el uso de *A. orbicularis* como planta insectívora. Hay, sin embargo algunos estudios sobre especies del género *Aristolochia*, que muestran que algunos lepidópteros se alimentan de estas plantas y usan el ácido aristolóquico como defensa contra sus depredadores (Urzúa, *et. al.* 1982).

Los metabolitos secundarios que la oruga adquiere al alimentarse de la planta le proporcionan una acción bacteriana y microbial ante parásitos y desde luego ahuyentador de depredadores (Urzúa A., *et. al.* 1982).

### 1.6.2.- *Aristolochia orbicularis* (Duchr)

Es una planta nativa de México considerada como hierba rastrera (fig. 4) que crece abundantemente en Xochipala, en la región centro del estado de Guerrero; se conoce como Tlacopalli o flor de pato y su raíz se usa como medicamento para dolor estomacal en la región.

El clima para Xochipala, según García, (1988), corresponde al de la estación ubicada en el Municipio de Eduardo Neri, y es: Bs, (h')w(w) y gw', clima seco y cálido con una corriente P/T de 28.1, temperatura media anual de 24.3°C, régimen de lluvia de verano y precipitación de 686 mm. Los suelos de la región son derivados de caliza y lutitas calcáreas (Gaona, 1991).

Debido a la variación en altitud, en la comunidad se encuentran tres tipos de vegetación:

De 500 a 1450 m. s. n. m. se localiza el Bosque Tropical Caducifolio, de 1690 a 2100 m. s. n. m. se encuentra el Bosque de Quercus y entre las dos zonas un ecotono de transición (Rzedowski, 1978).

La planta fue identificada por el Dr. Fausto González Garavito del Instituto de Ciencias Naturales Bogotá Colombia y colectada por el M. en C. Armando Gómez Campos de la Facultad de Ciencia UNAM. Actualmente se encuentran ejemplares en el herbario de la Facultad de Ciencias (FCME), con número de registro AG-1636 y AG-1881 y en el herbario del Jardín Botánico de la UNAM, (MEXU), donde están registradas para otros estados de la república:

Huetamo, Michoacan (número de registro 2953) y Tanjasnec; San Antonio municipio; S. L. P. (número de registro 1959).

Las *Aristolochias* se han usado en medicina tradicional desde épocas primitivas como expectorantes y antihelmínticos (Hegnauer, 1966).

El uso de vegetales y minerales como agentes de control de insectos en nuestro país tiene orígenes muy antiguos (Arenas, 1994). En la región de Xochipala se ha sugerido el uso de *A. orbicularis* como planta insectívora. Hay, sin embargo algunos estudios sobre especies del género *Aristolochia*, que muestran que algunos lepidópteros se alimentan de estas plantas y usan el ácido anistolóquico como defensa contra sus depredadores (Urzúa, *et. al.* 1982).



Figura 4. *Anstolochira orbicularis* (Duché)

Por ejemplo, algunas infusiones o suspensiones de la raíz o tallo, de *A. bracteata* (Retz) tienen una ligera actividad insecticida contra la mosca común y *A. cymbifera* (Mart & Zucc) para la cucaracha común, probándose como insecticidas naturales.

Los volátiles de las diferentes especies del género *Aristolochia* no han sido investigados como repelentes o atrayentes para manejar poblaciones de insectos.

En México, la producción agrícola se ve afectada por diferentes factores socioeconómicos, abióticos y biológicos; además las condiciones climáticas del país y la carencia de infraestructura para tener un almacenamiento adecuado favorece la infestación de granos y semillas por hongos e insectos (Ramírez, 1981).

Los insectos son de los agentes que más daño causan a los granos almacenados.

Siendo el maíz el tercer cereal más consumido en el mundo y en México, se decidió elegir a dos plagas de maíz almacenado: *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum*, para evaluar el efecto de los volátiles de *Aristolochia orbicularis* sobre el comportamiento de estos insectos.

## 1.7.- AISLAMIENTO DE VOLATILES

Los aceites esenciales son mezclas complejas formadas por compuestos volátiles; y éstos son los principios olorosos presentes en diferentes partes de las plantas (Conafrut, 1984), siendo los responsables del aroma e importantes contribuyentes del sabor de los frutos.

Se han desarrollado diferentes técnicas para obtener y analizar una mezcla volátil, a continuación se describen brevemente algunas de estas técnicas:

### 1.7.1.- Análisis de los volátiles en el espacio de cabeza o espacio libre ("headspace")

Mediante esta técnica se pretende detectar a los componentes más volátiles del aroma del material a analizar, ya sean hojas, frutos etc; la mezcla de los compuestos más volátiles que se encuentran en equilibrio en el "espacio de cabeza" de un frasco donde se ha colocado una cierta cantidad de la muestra en estudio, se analiza por cromatografía de gases o gases-masas.

La técnica del "headspace" se usa para estudiar aromas y se puede determinar la calidad del sabor, para controlar procesos y para estudiar relaciones entre variedades, estaciones, madurez, adulteraciones y la calidad de los frutos (Charalambous, 1978).

### 1.7.2.- Destilación por arrastre de vapor a presión atmosférica

Este es el método más común empleado para el análisis de volátiles, aunque tiene el inconveniente de que se detectan compuestos por el efecto térmico y por los disolventes de la extracción, que pueden surgir de la descomposición química, de la reacción o reacciones enzimáticas entre los componentes individuales durante el proceso de aislamiento. El equilibrio vapor-líquido puede estar complicado por la presencia de sólidos solubles e insolubles. De esta manera la composición de los volátiles obtenidos por destilación de arrastre no es siempre representativa del material inicial (Schultz C., et. al.1977).

Con esta técnica se han realizado trabajos donde se extrajeron volátiles de flores para separar e identificar sustancias químicas que pudieran ser utilizadas como atrayentes por las flores en la polinización por el insecto (Knudsen J., et. al. 1992).

También se aislaron y determinaron los volátiles del fruto del chapote amarillo *Sargentia greggi* (Wats), el cual es hospedero silvestre de la mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens*, Loew) , la cual ocasiona graves daños a muchas variedades de frutas comerciales, entre las que destaca la naranja, toronja y mango. (Sánchez L., et al. 1990).

### 1.7.3.- Extracción con fluidos supercríticos

Es una técnica donde se utiliza CO<sub>2</sub> como fluido extractor, obteniéndose un concentrado, el cual por medio de una destilación simple, se purifica el producto para procesarlo en cromatografía de gases, es un método que se utiliza en el análisis de compuestos altamente volátiles y difíciles de extraer o atrapar (Marsin, 1993). Muchos laboratorios utilizan la extracción de fluidos supercríticos para procesar material cosmético en bruto, también esta técnica se utiliza en la industria farmacéutica (Chester T., et. al. 1992).

### 1.7.4.- Adsorción

Ciertas sustancias sólidas como alúmina, carbón activado, sílica gel, mallas moleculares y polímeros porosos, tienen la habilidad de unirse selectivamente a compuestos volátiles de una solución. (Murray K., 1977; Dirinck, P. et. al. 1977).

1.7.5.- Cromatografía de gases (Jennings,1977) El método usado con mayor frecuencia en la actualidad para el estudio de los aceites esenciales es la cromatografía de gases en columna capilar usando generalmente carbowax 20M y un detector de ionización de flama (Murray,1977 ; Buttery,1981; Moshonas, 1981). Se ha establecido una constante para la identificación de los componentes volátiles que se denominan índices de Kováts. Los índices de



retención de Kováts, se refieren a un índice relativo en el que el comportamiento de un compuesto se describe en relación al hidrocarburo parafínico lineal del mismo número de carbonos.

A cada hidrocarburo se le asigna un índice de 100 veces su número de carbonos, el índice de cada compuesto puede definirse como (Kováts, 1958):

$$I_b^a = 100 N + 100 n \frac{\log t'(A) - \log t'R(N)}{\log t'(RN-m) - \log t'R(N)}$$

#### 1.7.6. - Espectroscopia de masas.

La espectroscopia de masas acoplada a la cromatografía de gases es la herramienta más valiosa en el análisis de los aceites esenciales, primero se efectúa la separación de los componentes volátiles y una vez separados entran al espectrofotómetro de masas con el cual se puede obtener un espectro de cada uno de los componentes que integran al aceite esencial (Teranishi, 1981), en la identificación de los componentes de un aceite esencial, el uso de índice de retención como criterio para la identificación de volátiles unido a la espectrometría de masas, es la técnica más usada.

### OBJETIVO:

Estudiar el efecto de los volátiles de *Aristolochia orbicularis* sobre el comportamiento de dos especies de insectos de importancia económica: *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum*.

## 2.0.-MATERIALES Y METODOS

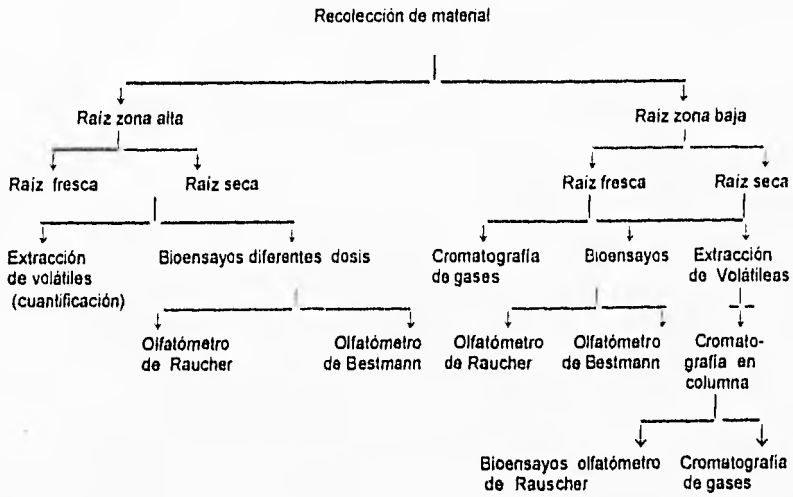


Fig. 5. Diagrama de flujo del diseño experimental.

## 2.1.- RECOLECCION DE *Aristolochia orbicularis*

La raíz de la planta se colectó en Mayo de 1995 en la carretera Xochipala-Filo de Caballo, que se encuentra entre los 99° 38' de longitud oeste, y en una altitud de 1100 m.s.n.m. La comunidad de Xochipala se encuentra a 12 km de la desviación Filo de Caballo de la carretera nacional 95, que une a Iguala con Acapulco, en el estado de Guerrero. Pertenece al municipio de Eduardo Neri (Fig.6).

La colecta se realizó en dos zonas denominadas "zona alta Encinal" a 1800 m.s.n.m. y "zona baja Lagunitas" a 1700m.s.n.m. Algunas de las raíces se guardaron en bolsas de polietileno con suelo de la zona de colecta y se sembraron en macetas con suelo de la región y fueron cultivadas en un invernadero entre 24°C y 35°C, proporcionándoles agua dos veces por semana.

## 2.2.-CULTIVO DE INSECTOS

Del poblado de Xoxocotla Morelos, se colectaron 10 mazorcas infestadas, se desgranaron en el laboratorio y se colocaron en frascos de cultivo (con tapa de malla), 24hrs más tarde se separaron insectos de las dos especies con las que se realizaron los bioensayos: *Sitophilus zeamais* y *Tribolium castaneum*.

Ya separadas las especies, se colocaron en frascos de cristal con 500 g de maíz cacahuazintle, el cual estaba limpio de insectos, hongos y productos químicos; en todos los casos el maíz utilizado para cultivar los insectos se dejó 2 hrs. en el refrigerador para que alcanzara una humedad relativa del 14%, ante estas condiciones los insectos pudieron ovipositar con facilidad.

Después de 35 días se retiraron los insectos adultos del maíz infestado; de estos adultos, los más vigorosos se utilizaron para hacer nuevos cultivos; 70 días después de obtener la segunda generación, se eligieron los adultos más vigorosos para realizar los bioensayos. Estos cultivos se conservaron en un invernadero con una temperatura entre 22-35°C y una humedad relativa de 11-14%.

*Sitophilus zeamais*, fue el insecto que se adaptó más rápidamente a las condiciones del laboratorio (19-22 °C y 20% de humedad relativa), por lo que se seleccionó como primer organismo de prueba.

Para establecer un bioensayo de repelencia se seleccionó en primer lugar el olfatómetro de Rauscher, 1992; donde se evaluó el comportamiento del insecto en tres categorías: insectos sin respuesta, insectos repelidos (insectos en el blanco) e insectos atraídos (insectos en el material de prueba).



Figura 6. zona de colecta  
Xochipala Guerrero.



Fuente: Bello (1944)

Los insectos tenían un espacio reducido donde los volátiles de la planta estaban en contacto con él, en un tiempo corto (30 minutos), y el insecto tendría únicamente dos alternativas; la rama donde se encontraba el material de prueba o la rama 'blanco', que contenía únicamente un papel filtro con el disolvente en el caso del aceite esencial y sin disolvente en el caso de la raíz.

### 2.3.- EXTRACCION DE VOLATILES

Se extrajeron los volátiles de la raíz de la zona alta y baja de *Aristolochia orbicularis*, empleando un equipo de destilación por arrastre de vapor y extracción simultánea de Schultz modificado (Schultz, *et. al.* 1977). La modificación consistió en la supresión del enchaquetado y la apertura de una comunicación a un refrigerante por la parte superior con el fin de igualar la presión atmosférica con la del sistema y obtener la total condensación de los volátiles, se usó diclorometano como disolvente.

Se usaron 100 g de raíces frescas que se partieron en pedazos de 2 cm. En el caso de raíces secas se molieron hasta obtener un polvo grueso.

Se realizó por separado la extracción de los aceites esenciales de las raíces de las zonas baja y alta de Xochipala, Guerrero; utilizando cuatro muestras diferentes: 16 g de la raíz seca de la zona alta; 6 g de raíz seca de la zona baja; 100 g de raíz fresca de la zona alta y 100 g de raíz fresca de la zona baja (figura 5).

### 2.3.1.- DESCRIPCION DEL SISTEMA DE SCHULTZ

Se colocó en la rama (a) (Figura 7), un matraz con la muestra de raíz y 500ml de agua; en la rama (b) se colocó un matraz con disolvente extractor (diclorometano). Se calentó el matraz de la rama (a) y antes de que alcanzara su punto de ebullición se calentó el matraz de la rama (b), con el propósito de que los vapores de ambos matraces llegaran al mismo tiempo a la cámara de extracción (c). En la parte alta de la cámara de extracción se llevó a cabo la extracción del aceite esencial que fue arrastrado por el vapor de agua. Se condensaron los vapores ayudados por los refrigerantes; y en el dispositivo (f), por diferencia de densidad y por ser insolubles, se separaron el disolvente que contenía el aceite esencial y el agua. Este dispositivo permite el retorno del agua y del disolvente a sus matraces de origen, teniendo de esta manera la destilación por arrastre de vapor y extracción de una manera simultánea y continua.

El tiempo de extracción y destilación del aceite esencial varió entre 1:30 y 1:00 hr. dependiendo de la cantidad de raíz que se usó.

Se dejó enfriar el sistema, y se retiró el matraz (b) que contenía el disolvente y el aceite esencial; el contenido del matraz se colocó en un embudo de separación para quitar agua y se agregó al matraz sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se realizó una decantación para eliminar el sulfato de sodio anhidro.

En un sistema de destilación simple, se separó el diclorometano del aceite esencial considerando que el punto de ebullición del diclorometano es de 32-34°C. El aceite esencial fue colocado en un frasco limpio y previamente pesado para cuantificarlo.

### 2.4.- CROMATOGRAFIA EN COLUMNA

En una columna de sílice gel de 70-230 mallas se separó 0.8 g de aceite esencial utilizando hexano como eluyente. Se colectaron fracciones de 50 ml, reuniendo posteriormente las fracciones iguales, de acuerdo con la cromatografía en capa delgada. Se obtuvieron 9 fracciones diferentes, se evaporó el disolvente por destilación en baño María, usándose las fracciones en los bioensayos.

### 2.5.-CROMATOGRAFIA DE GASES

Las cuatro muestras distintas de aceite obtenidas, y las fracciones con mayor porcentaje de repelencia se analizaron por cromatografía de gases. El análisis se realizó en un equipo Varian 3300 con una columna capilar de sílice de fase estacionaria fenil metil silicón DB-5 con un programa de calentamiento de 60° a 300° a 5°/min, inyector "split" a 150° y un detector de ionización de flama a 300°. Se utilizó  $\text{H}_2$  a 1ml/min como fase móvil (fig. 5).

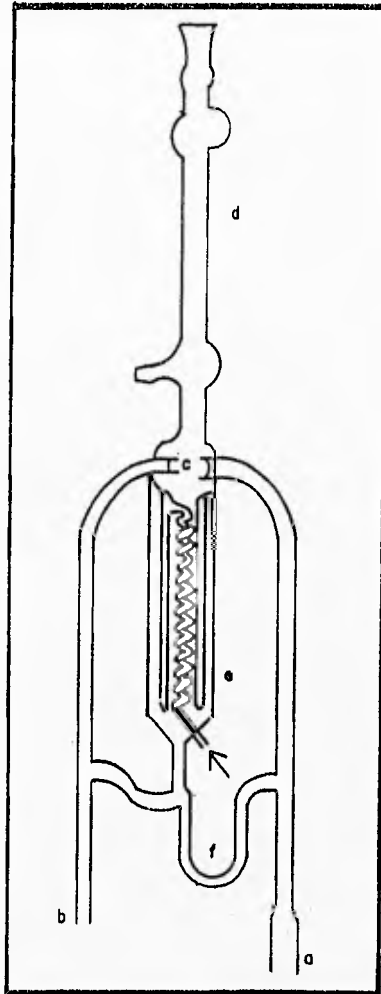


Figura. 7 EQUIPO DE DESTILACION POR ARRASTRE DE VAPOR Y EXTRACCION SIMULTANEA. MODIFICADO DE SCHULTZ

- a) conexión al matraz con la muestra y el agua
- b) conexión al matraz con el disolvente
- c) cámara de extracción
- d) y e) condensadores
- f) separador de líquidos



## 2.6.- BIOENSAYOS

### 2.6.1.- Olfatómetro tipo Rauscher

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio en condiciones controladas (19-22°C y 20% de humedad relativa). Se utilizó un olfatómetro de cristal en forma de Y (Rauscher, 1992). En una de las ramas del olfatómetro se colocó el material de prueba (raíz o aceite esencial) y la otra rama del mismo se usó como blanco (papel filtro o maíz). En la base del olfatómetro se colocaron 20 insectos adultos de cada una de las distintas especies y después de 30 minutos se contó el número de insectos en ambas ramas del olfatómetro y los que quedaron en la base. Se realizaron 5 repeticiones para cada tipo de prueba.

### 2.6.2.- Modificación al olfatómetro tipo Rauscher

Al olfatómetro de cristal en forma de Y (Rauscher, 1992), se adaptaron 2 matraces Kitasato de 500 ml con 140 g de maíz cacahuazintle en cada una de las ramas del olfatómetro; en uno de los matraces se agregaron diferentes dosis del material de prueba, y se llevó a cabo el bioensayo como se describió anteriormente. Se hicieron 5 réplicas de cada experimento.

### 2.6.3.- Olfatómetro de Madera

En un bioensayo comparativo, se utilizó un olfatómetro de madera de 90 x 60 x 10 cm (Bestmann, *et. al.* 1991), en el cual se colocaron 10 cajas Petri con 35 g de maíz cacahuazintle a cada una. A 5 cajas se les colocó el material de prueba (raíz o aceite esencial disuelto en hexano el cual se dejó evaporar a temperatura ambiente en diferentes dosis impregnado en papel filtro de 3 mm x 3 mm).

Para las cajas control se colocó un papel filtro de 3 mm x 3 mm con hexano que se dejó evaporar. En el centro del olfatómetro se colocaron 60 insectos adultos y después de 12 hr. se contó el número de insectos en cada caja Petri y los que no estaban dentro de ellas.

Para el establecimiento de la dosis necesaria para el efecto de repelencia, se realizaron bioensayos en el olfatómetro de Rauscher con 0.015, 0.030, 0.060, 0.120, 0.180 y 0.240 g de raíz. Se eligió la dosis que tuvo un mayor efecto de repelencia, considerando el rendimiento de aceite obtenido, se calculó la dilución necesaria para llevar a cabo los bioensayos. (Fig. 5).

### 3.0.-RESULTADOS Y DISCUSION

En Xochipala *A. orbicularis* crece en las zonas altas y bajas del lugar. En la recolección de la planta con ayuda de vecinos de la localidad se colectó a uno de los probables polinizadores de la flor. Este insecto es una abeja conocida en la región con el nombre común de bermeja. La abeja fue identificada por la PDB Rocío López Mendoza, del Museo de Zoología "Alfonso L. Herrera" Facultad de Ciencias UNAM, como *Scaptotrigona hellwegeri* (Friese) que pertenece a la familia Apidae. Esta abeja se distribuye en México a lo largo de la costa del Pacífico entre Oaxaca y Sinaloa. Actualmente está registrada entre el nivel del mar y los 1500 m. s. n. m. en un área de Bosque Tropical Caducifolio o subcaducifolio (Ayala, 1992). De acuerdo con observaciones de vecinos del lugar, la abeja poliniza a la flor de *A. orbicularis* y podría eventualmente servir en su proliferación. Se logró la adaptación de *A. orbicularis* en condiciones de invernadero en la Ciudad de México.

#### 3.1.- EFECTO DE *A. orbicularis* SOBRE *S. zeamais*

Antes de evaluar el efecto que la raíz de *A. orbicularis* podría tener sobre el comportamiento de *S. zeamais* se realizaron bioensayos donde no se colocó ningún material de prueba en las ramas del olfatómetro de Raucher (raíz o aceite esencial), sólo papel filtro. Se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 2).

Tabla 2. DISTRIBUCION DE INSECTOS SIN MATERIAL DE PRUEBA

Insectos de prueba	Promedio de insectos distribuidos en la base del olfatómetro	Promedio de insectos distribuidos en las ramas del olfatómetro
20	1.75±.5	18.25±.5

De los resultados anteriores se concluyó que *S. zeamais* se distribuye en un 91.2% en las dos ramas del olfatómetro de cristal en forma de Y. Probablemente, debido a la tendencia del insecto a escapar, pudiera utilizar una corriente de aire que entra por las ramas del olfatómetro como guía para dirigirse a las ramas.

### 3.1.1.-ACTIVIDAD DE LA RAIZ

En el olfatómetro de Rauscher, se llevaron a cabo los bioensayos para determinar la dosis de raíz necesaria para las pruebas de repelencia. En una rama del olfatómetro se colocó cada una de las dosis que se indican en la tabla 3, y en la segunda rama papel filtro como blanco. En cada bioensayo se realizaron cinco repeticiones, en la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos indicando la desviación estándar de cada experimento.

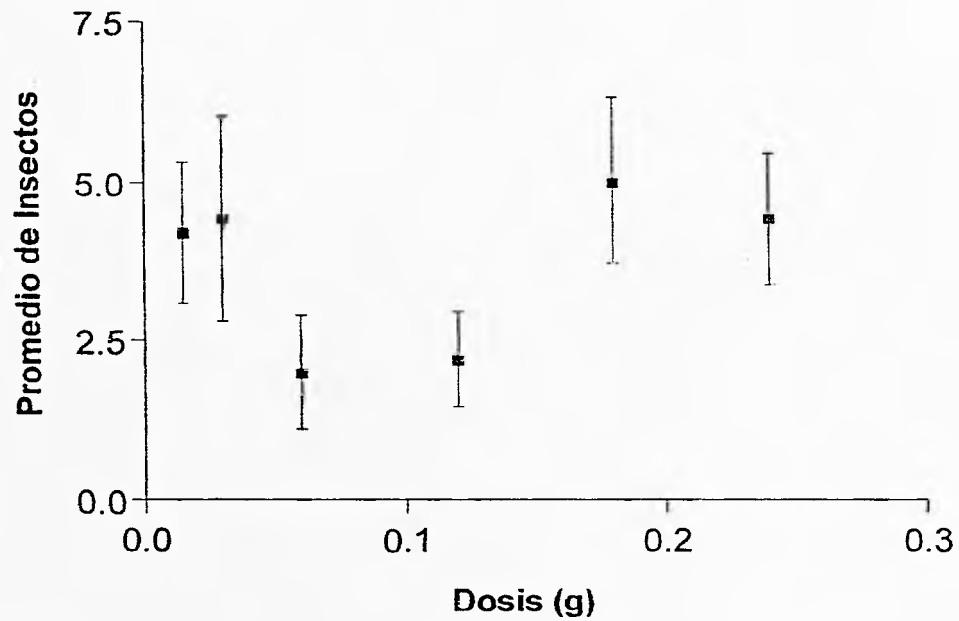
TABLA 3. EFECTO DE *A. orbicularis* SOBRE *S. zeamais* A DIFERENTES DOSIS DE RAIZ

Dosis (g. de raíz por prueba)	Insectos de prueba	Promedio de insectos en la raíz	Promedio de insectos en el blanco	Promedio de insectos en la base del olfatómetro	IR
0.015	20	4.2±3	13.2±4.5	2.6±2.5	3.7
0.030	20	4.4±4	10.6±7.5	5±3.5	3.43
0.060	20	2±2.5	8±3.5	10±4.5	8.5
0.120	20	2.2±2	13.8±5	4±4.5	7.90
0.180	20	5±4	3.4±4.6	11.6±5	2.76
0.240	20	4.4±3	9.6±4.5	6±2	3.40

Los resultados de estos experimentos muestran que hay un efecto de repelencia de la raíz de *A. orbicularis* sobre *S. zeamais*. Puede observarse que en algunos experimentos un gran número de insectos se quedan en la base del olfatómetro. Ya que los experimentos previos demostraron que sólo el 10% de los insectos no llegan a las ramas del olfatómetro durante los 30 minutos, puede pensarse que la suma de los insectos que se quedan en la base y los que se van a la rama blanco son repelidos por la raíz. (Fig. 8).

El índice de repelencia (IR) se calculó dividiendo el número de insectos repelidos (90% de los insectos en la base del olfatómetro + insectos en la rama blanco) entre los insectos atraídos (insectos en la rama del olfatómetro que contenía la raíz).

Figura 8. Efecto de distintas dosis de la raíz (g) de *A. orbicularis* sobre *S. zeamais*



La fig. 8 muestra que los insectos son repelidos por la raíz de *A. orbicularis* siendo 0.060 g. la dosis que se tiene la máxima repelencia; aunque los estudios estadísticos mostraron que los datos no son significativos, se tomo esta dosis para llevar a cabo los siguientes bioensayos.

La tradición oral indica que la planta de *A. orbicularis* colectada en la zona alta Encinal es físicamente igual que la de la zona baja Lagunitas de Xochipala, Guerrero; pero su actividad curativa es diferente, por lo tanto se colectó *A. orbicularis* en ambas zonas, y se diseñaron los siguientes experimentos, para evaluar si había diferencia en el efecto de la raíz de ambas zonas sobre *S. zeamais*.

Con base en estos resultados, se realizaron bioensayos en el olfatómetro de Rauscher (5 repeticiones), con las muestras de raíz de las dos zonas colectadas; los resultados se muestran en la tabla 4.

TABLA 4. BIOENSAYOS CON RAIZ SECA DE LAS DOS ZONAS DE COLECTA.

	Promedio de insectos atraídos a la raíz (0.060 g)	Promedio de insectos en la rama blanco	Promedio de insectos en la base del olfatómetro	IR
Raíz zona baja "Lagunitas"	1.25±1.25	8.75±2	11.25±2	15.1
Raíz zona alta "Encinal"	2.25±.5	7.25±.5	10.25±1	7.32

Se observó que la raíz de la zona baja presentó menor número de insectos en la rama del olfatómetro que contenía la raíz, se realizó la extracción de los volátiles del aceite esencial de las raíces frescas y secas de cada una de las zonas de colecta para evaluar la posibilidad de que una de las dos muestras tuviera mayor contenido de volátiles.

### 3.1.2.- ACTIVIDAD DE LOS VOLATILES

La tabla 5 muestra contenido de aceite esencial en raíz de las dos zonas de colecta.

TABLA 5. CONTENIDO DE ACEITE

Muestra	Contenido de aceite
Raíz seca z/alta	1.048%
Raíz seca z/baja	1.45%
Raíz fresca z/alta	0.2219%
Raíz fresca z/baja	0.1876%

Con los aceites esenciales obtenidos se efectuaron bioensayos de repelencia de las dos zonas de colecta (zona alta y zona baja), usando a *S. zeamais* como material entomológico, y el olfatómetro en forma de Y. La raíz seca contiene 1.42% de aceite, 60 mg de raíz contiene 0.8 mg de aceite esencial, esta dosis correspondía a un volumen muy pequeño (0.0008 ml) de aceite esencial, por lo que se hizo una solución de 1 mg/ml y se usaron 0.8 ml de aceite esencial en hexano como material de prueba en el olfatómetro de Raucher. En la rama blanco se usaron 0.8 ml de hexano que en ambos casos se dejó evaporar.

La comparación del comportamiento del picudo del maíz por efecto de cantidades iguales de aceite esencial aislado de *A. orbicularis* de las dos zonas de colecta dio los siguientes resultados (tabla 6).

TABLA 6. BIOENSAYOS CON VOLATILES DE ACEITE ESENCIAL

	Promedio de insectos en la esencia	Promedio de insectos en el blanco	Promedio de insectos en la base	IR
Aceite de raíz seca z/alta	2.5±5	5±2.5	8.75±4.25	5.15
Aceite de raíz seca z/baja	1.75±1	3.25±3.5	15±3.5	9.57
Aceite de raíz fresca z/alta	2.75±1.5	9.75±3.5	6.5±1.5	5.6
Aceite de raíz fresca z/baja	2.25±1.5	4±1	13.25±1	7.07

La tabla muestra que existió un efecto de repelencia sobre el picudo del maíz *S. zeamais*. Se observó que el efecto del aceite de la raíz fresca es menor cuando la raíz se seca. La pérdida de los componentes más volátiles del aceite podría explicar esta diferencia, si éstos tuvieran un efecto de atracción.

La muestra de aceite de la raíz seca de la zona baja fue la que mostró una mayor actividad repelente sobre el insecto ( $1.75 \pm 1$ ) y un mayor contenido de aceite (1.45%). El mayor contenido de aceite puede explicar la mayor actividad de la raíz de la zona baja, ya que existe diferencia en la actividad farmacológica de la planta, se consideró interesante comparar la composición de los aceites esenciales obtenidos de cada una de las muestras.

A cada una de las muestras de aceite se les realizó una cromatografía de gases y a los componentes más abundantes se les comparó por su tiempo de retención (TR).

En la tabla 7. Se comparó a los componentes más abundantes por su TR de las cuatro muestras de aceite de *A. orbicularis* obtenidas en la extracción.

**TABLA 7. VOLATILES DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS DOS ZONAS DE COLECTA.**

Zona alta raíz seca		Zona baja raíz seca		Zona baja raíz fresca		Zona alta raíz fresca	
TR	%	TR	%	TR	%	TR	%
2.81	3.00	2.88	2.71	2.72	3.99	2.70	1.40
3.01	4.78	3.09	4.47	-	-	-	-
-	-	-	-	4.27	6.59	-	-
-	-	-	-	5.65	3.36	-	-
7.33	7.66	7.49	8.10	7.38	21.54	7.38	16.21
8.76	2.96	8.52	5.56	8.73	5.46	-	-
8.84	5.06	-	-	8.79	2.95	8.61	15.18
-	-	8.90	2.68	-	-	8.79	7.53
10.32	1.80	8.98	2.96	10.18	1.89	-	-
11.48	1.36	11.62	3.70	11.36	3.68	11.37	2.9
13.69	3.21	13.82	2.46	-	-	-	-
15.26	10.23	-	-	-	-	-	-
15.40	4.26	15.42	7.72	15.25	3.68	15.30	5.08
-	-	17.22	3.77	9	-	-	-
-	-	-	-	-	-	18.9	7.56
19.0	11.01	19.01	2.70	19.66	2.6	-	-
-	-	19.23	5.60	-	-	-	-
-	-	20.01	3.98	-	-	-	-

TR= Tiempo de retención.

Puede observarse en la tabla anterior que algunos compuestos son comunes (por ejemplo TR 2.81-2.88-2.72-2.70 y 8.84-8.90-8.70-8.79 y son abundantes en algunas muestras y están ausentes en otras, por ejemplo TR 5.26, 7.53, 7.38, 20.01) siendo el resto de los componentes diferentes.

La mayor diferencia se encuentra en la raíz fresca de la zona baja, donde existen componentes con TR 4.27, 5.65, que no están presentes en las otras muestras. Particularmente notable el componente con TR 7.38 (16.2%) en raíz fresca, es explicable que los componentes más volátiles se pierdan en el secado de la raíz. Sin embargo ya que las cuatro muestras tienen actividad, es probable que los componentes ausentes no sean responsables de la actividad.

### 3.1.3.-ACTIVIDAD DE LAS FRACCIONES

Se intentó la separación de los componentes del aceite esencial de raíz seca zona baja por medio de una cromatografía en columna de sílica gel y hexano como eluyente, obteniéndose nueve fracciones. Con cada una de las fracciones obtenidas se realizaron bioensayos utilizando el olfatómetro de Rauscher y a *Sitophilus zeamais* como material entomológico, haciendo cinco repeticiones por prueba. Para comparar el efecto de repelencia de *A. orbicularis* se propone el Índice de Repelencia (IR).

Se obtuvieron los resultados que se muestran en la tabla 8.

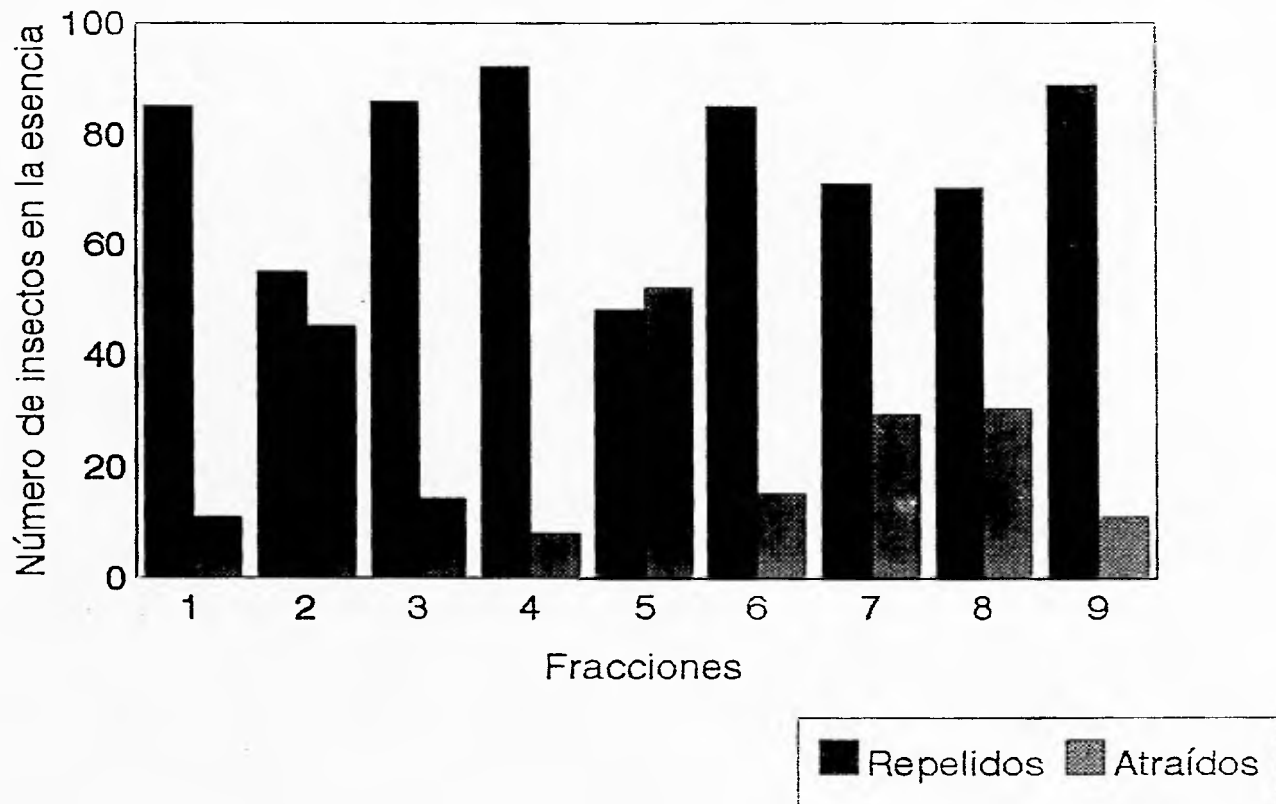
TABLA 8. INDICE DE REPELENCIA DE CADA UNA DE LAS 9 FRACCIONES DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE *S. zeamais*

Fracción	Total de insectos	Promedio de insectos en la base	Promedio de insectos en el blanco	Promedio de insectos en la esencia	IR
1	20	12.25±2.5	7.5±1	1±1	18.52
2	20	7.75±5	4.25±1	9.5±1	1.18
3	20	11.25±3.5	7.25±2	1.5±1.5	11.6
4	20	7.5±3	12.5±2	7.75±5	25.66
5	20	4.25±1	6.5±2	11.5±2.5	0.89
6	20	7.5±1	11.5±2.5	2.25±1.5	8.11
7	20	3.5±5	10.5±4	5±3	2.73
8	20	4.75±5	11±3.5	5.25±1	2.90
9	20	5.5±1	12.5±5	1±5	17.45

De acuerdo con los resultados anteriores puede verse que cada fracción tiene una actividad diferente sobre el insecto, algunas como las fracciones 1, 4 y 9 son más repelentes que el aceite completo. Sin embargo algunas como la fracción 5 actúan como atrayente. El comportamiento del insecto puede observarse más fácilmente en la fig. 9 donde se sumaron el número de insectos en la base del olfatómetro con el número de insectos que se dirigieron a la rama blanco como insecto repelido.



Figura 9. Efecto de la repelencia de las fracciones del aceite esencial de la raíz de *A.orbicularis* sobre *S.zeamais*.



De las nueve fracciones obtenidas se eligieron aquellas que mostraron mayor actividad de repelencia sobre el insecto.

Las fracciones 1, 4 y 9 tuvieron mayor actividad que el aceite completo, para *S. zeamais*. A cada una de las fracciones se le realizó una cromatografía de gases, mostrando gran número de picos de los cuales se compararon los espectros de los picos más pronunciados por su tiempo de retención.

TABLA 9. VOLATILES DE LAS FRACCIONES CON MAYOR ACTIVIDAD REPELENTE

FRACCION 1		FRACCION 4		FRACCION 9	
TR	%	TR	%	TR	%
1.010	21.82	-	-	1.008	9.32
1.126	15.35	-	-	1.172	8.75
1.216	8.35	1.21	37.04	-	-
-	-	1.28	30.44	-	-
-	-	-	-	2.374	6.30
-	-	-	-	2.774	7.28
-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-
-	-	4.123	0.283	-	-
-	-	-	-	6.722	3.46
-	-	8.400	0.794	8.422	20.22
9.946	2.22	-	-	9.506	7.02
10.044	3.14	-	-	-	-
11.602	2.57	-	-	-	-
12.815	3.63	-	-	-	-
16.899	7.21	-	-	-	-
19.250	2.20	-	-	25.061	1.33
20.817	2.12	-	-	28.754	2.13

Se observa en la tabla 9 los componentes que se encuentran en mayor abundancia en algunas fracciones por ejemplo: TR 1.010, 1.126, 1.128, 1.121, 8.422, algunos de estos componentes son iguales o semejantes como en el caso de la fracción 1 y 4 que comparten componentes con TR de 1.216-1.128 y la fracción 4 y 9 que comparten el de 8.40-8.42, siendo el efecto sobre el insecto diferente.

Del análisis de la curva de dosificación (ver página 28), se propuso la hipótesis de que existía la posibilidad de que algún componente del aceite estuviera actuando como atrayente, y que por tal motivo en esos experimentos la dosis de 0.180g tuvo menor efecto repelente que la dosis de 0.060 y 0.120g.

Con el propósito de descartar la posibilidad de que componentes muy volátiles pudieran ejercer la función de atrayentes para los insectos, a la raíz seca antes de hacerle la extracción se le hizo un tratamiento que consistió en calentar a la raíz en la estufa durante 2hr. a una temperatura constante de 30°C y después del calentamiento dejarla en reposo por un lapso de una semana.

Al aceite extraído de la raíz con tratamiento, se le realizó una cromatografía de gases y se compararon los componentes más abundantes por su tiempo de retención con los del aceite sin tratamiento. La tabla 10 muestra la comparación de acuerdo a sus TR del aceite con y sin tratamiento.

**TABLA 10 COMPARACION DEL TR DEL ACEITE DE *A. orbicularis* CON Y SIN TRATAMIENTO**

ACEITE CON TRATAMIENTO		ACEITE SIN TRATAMIENTO	
TR	%	TR	%
9.85	6.52	-	-
10.25	6.65	-	-
10.36	7.86	-	-
-	-	11.62	3.70
13.06	5.05	13.82	2.46
15.40	5.31	15.42	7.72
17.00	6.15	17.22	3.77
-	-	-	-
-	-	-	-
-	-	19.01	2.70
19.53	3.75	19.23	19.23
20.89	2.61	20.01	3.98

Al comparar los TR del aceite esencial con tratamiento y sin tratamiento, se observa que las muestras comparten TR similares o iguales, como por ejemplo: 13.06-13.82; 15.40-15.42; 19.53-19.23; 20.89-20.01.

Por lo que puede pensarse que los componentes que producen la repelencia sobre el insecto no son eliminados durante el secado y el tratamiento en la estufa de la raíz, siendo el resto de los componentes del aceite de acuerdo a su TR, diferentes.

Se hicieron los bioensayos con el aceite tratado 2hrs. en la estufa a 30°C en el olfatómetro de Rauscher y a *S. zeamais* como material entomológico, obteniendo los siguientes resultados tabla 11.

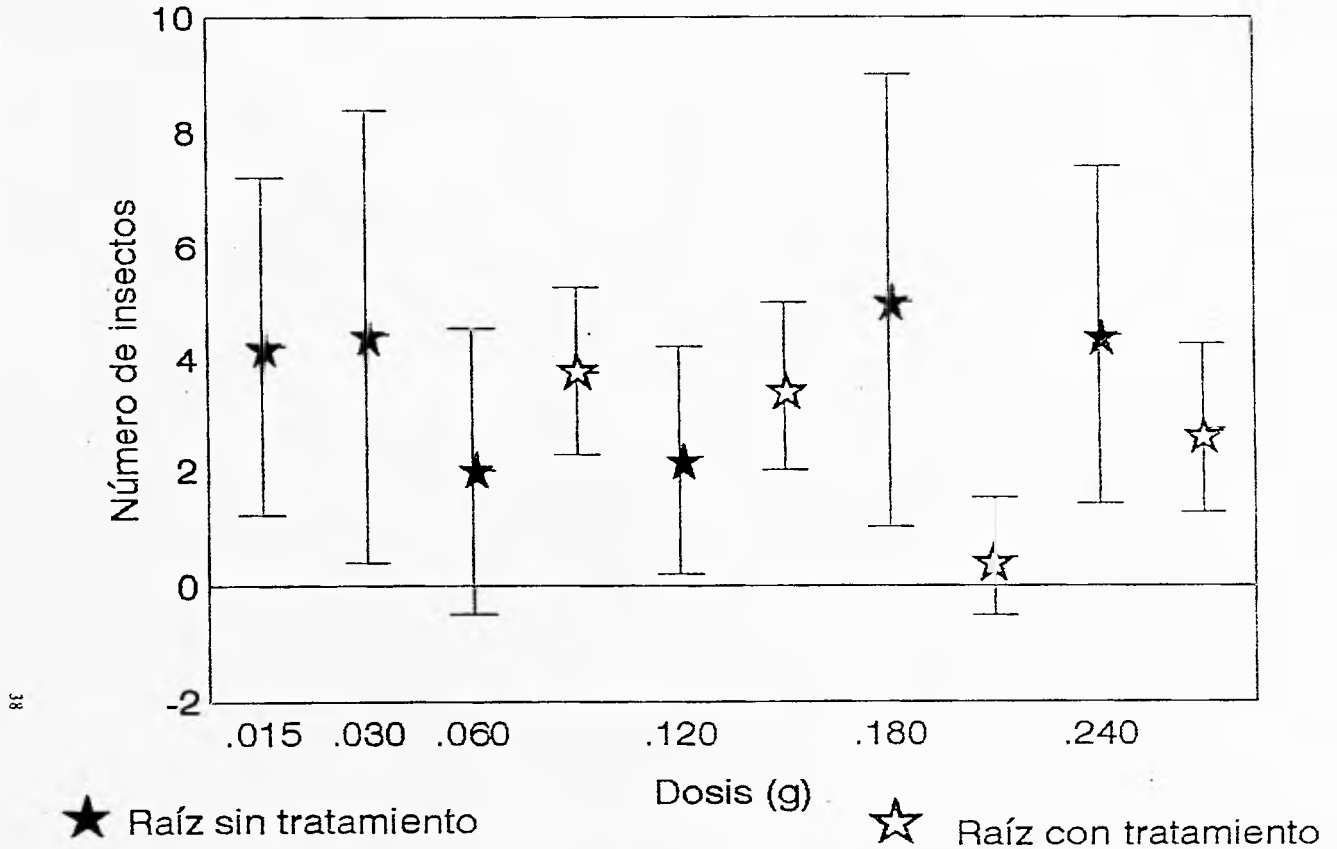
TABLA 11. BIOENSAYOS CON RAIZ DE *A. orbicularis* CON TRATAMIENTO SOBRE *S. zeamais*

Dosis	Porcentaje de insectos en la base	Porcentaje de insectos repelidos en el blanco	Porcentaje de insectos atraídos a la raíz	IR
0.60g	3.5±3.5	12.75±2.5	3.75±1.5	4.24
0.120g	2.25±2	15.25±2	3.5±1.5	4.9
0.180g	3±1.5	16.25±1.5	.5±1	37.9
0.240g	4.75±3	13±3	2.75±1.5	6.28

De los resultados obtenidos de la tabla 12, podemos observar que la dosis con tratamiento de 0.180g fue la que obtuvo el menor promedio de insectos en la raíz

En la fig. 10 podemos observar la comparación de los resultados de los bioensayos realizados con la raíz con y sin tratamiento, donde la dosis de 0.180g disminuyó su efecto atrayente, obteniéndose un alto efecto de repelencia, aunque la dosis de 0.060 y 0.120 g tienen menor repelencia que las del aceite sin tratamiento.

Figura 10. Efecto de la raíz de *A. orbicularis* con y sin tratamiento sobre *S. zeamais*.



Es evidente que se pierden algunos componentes del aceite que causan atracción, pero también se pierden componentes repelentes.

Para observar el comportamiento del picudo del maíz *S. zeamais* en presencia de maíz en el olfatómetro de cristal, se adaptó en cada una de las ramas del olfatómetro un matraz kitasato de 500 ml con 140g de maíz y uno de los matraces contenía 0.180g de raíz seca de *A. orbicularis* que fue la dosis con el mayor porcentaje de repelencia, en el experimento anterior. Los resultados obtenidos de los bioensayos se muestran en la tabla 12.

TABLA 12. DISTRIBUCION DE INSECTOS EN EL MATRAZ KITASATO CON MAÍZ COMO BLANCO.

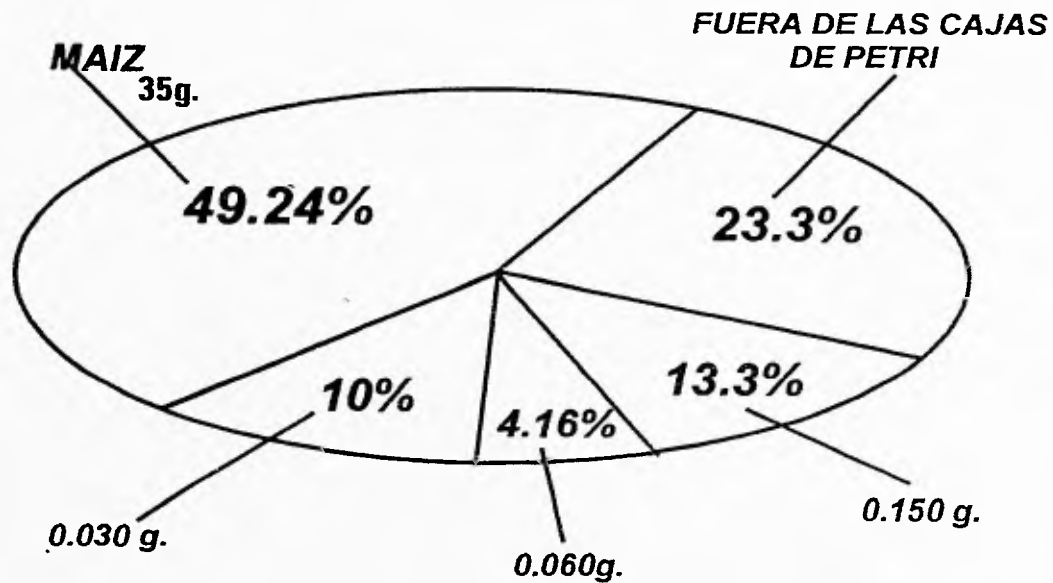
insectos de prueba	Promedio de insectos en maíz	Promedio de insectos en raíz	Promedio de insectos en la base
20	15.75±2.5	1.75±1.5	2±1

De los resultados anteriores podemos observar que *S. zeamais*, a pesar del efecto atrayente de los volátiles de maíz, es repelido por la raíz de *A. orbicularis*.

### 3.1.4.- OLFATOMETRO DE MADERA

En un bioensayo comparativo, se utilizó un olfatómetro de madera (Bestmann, 1991). Se comparó el efecto de la raíz de *A. orbicularis* mezclado con maíz sobre el comportamiento de *Sitophilus zeamais* en un olfatómetro grande donde el insecto estuvo en contacto con los volátiles de la planta por un tiempo largo (12 horas), utilizando distintas dosis de raíz seca, obteniéndose los siguientes resultados figura 11.

**FIGURA 11. DIFERENTES DOSIS DE *A orbicularis* EN EL OLFATOMETRO DE MADERA**



Los resultados obtenidos de los bioensayos efectuados en el olfatómetro de madera en los que tenía maíz en las cajas de petri y 0.8ml de aceite esencial y 0.8ml de hexano se muestran en la siguiente tabla 13.

TABLA 13. DISTRIBUCION DE INSECTOS EN LAS CAJAS PETRI CON MAIZ

insectos de prueba	insectos atraídos al aceite (%)	insectos atraídos al maíz (%)	insectos indecisos (fuera de las cajas petri) (%)
120	13.3	25.83	60.83

En el olfatómetro de madera (Bestman, 1991) el porcentaje de insectos sin respuesta (insectos fuera de las cajas de petri), fue muy elevado en ambas pruebas (raíz y aceite); aún así puede observarse un cierto efecto repelente, se decidió realizar los bioensayos siguientes en el olfatómetro de cristal en forma de Y (Rauscher, 1992), donde el número de insectos es menor (20) y por tanto el contacto que tuvieron los insectos con los volátiles de las planta es más directo y la respuesta del insecto es en menor tiempo, obteniéndose un mejor control de su distribución.



### 3.4.- EFECTO DE *A. orbicularis* SOBRE *Tribolium castaneum*.

Una vez que se había llegado a la conclusión de que la raíz de *Aristolochia orbicularis* tiene un efecto de repelencia sobre *Sitophilus zeamais* que es una plaga primaria del maíz se decidió evaluar su efecto sobre *Tribolium castaneum* plaga secundaria de maíz almacenado.

Las cantidades del material de prueba a utilizar (raíz o aceite) fueron los mismos elegidos para *S. zeamais*, ya que se pretendió evaluar el efecto del comportamiento de ambas especies ante las mismas condiciones experimentales

Con el objetivo de evaluar el comportamiento de *T. castaneum* ante la ausencia del material de prueba se realizó un bioensayo donde no se colocó material de prueba en las ramas, sólo papel filtro como blanco obteniéndose los siguientes resultados tabla 14.

Tabla 14. DISTRIBUCION DE INSECTOS SIN MATERIAL DE PRUEBA

insectos de prueba	Promedio de insectos distribuidos en las ramas	Promedio de insectos en la base del olfatómetro
20	7.6±3	12.4±3

De los resultados anteriores, se puede observar que sin la presencia de algún material de prueba (maíz o aceite), sólo el 38% de los insectos se ve afectado por los estímulos proporcionados por el medio.

Las dosis de raíz de *A. orbicularis* elegidas para realizar los bioensayos con *T. castaneum* fueron la de 0.180g por presentar el mayor porcentaje de repelencia en los bioensayos con raíz tratada con *S. zeamais* (pagina 37) y la dosis de 0.060g por presentar el mayor efecto de repelencia a *S. zeamais* con raíz sin tratamiento ( pagina 28 ).

Los bioensayos se realizaron en el laboratorio en condiciones controladas (21-30°C y 20% de humedad relativa) y 5 repeticiones para cada experimento, obteniéndose los siguientes resultados tabla 15.

TABLA 15. EFECTO DE *A. orbicularis* SOBRE *T. castaneum*

Dosis de raíz seca (g)	Insectos atraídos a la raíz	Insectos atraídos al blanco	Insectos en la base	IR
0.060	2.4±.5	2.4±2	15.2±1.5	3.4
0.180	2.6±5.5	3±1.5	15.2±1.5	3.7

La tabla 16 muestran el comportamiento de *Tribolium castaneum* usando 0.8ml de aceite esencial y papel filtro como blanco.

Para *T. castaneum* el IR se calculo de la siguiente manera:

$$IR = \frac{\text{Número de insectos en la base} \times 0.38^*}{\text{Número de insectos atraídos (esencia)}}$$

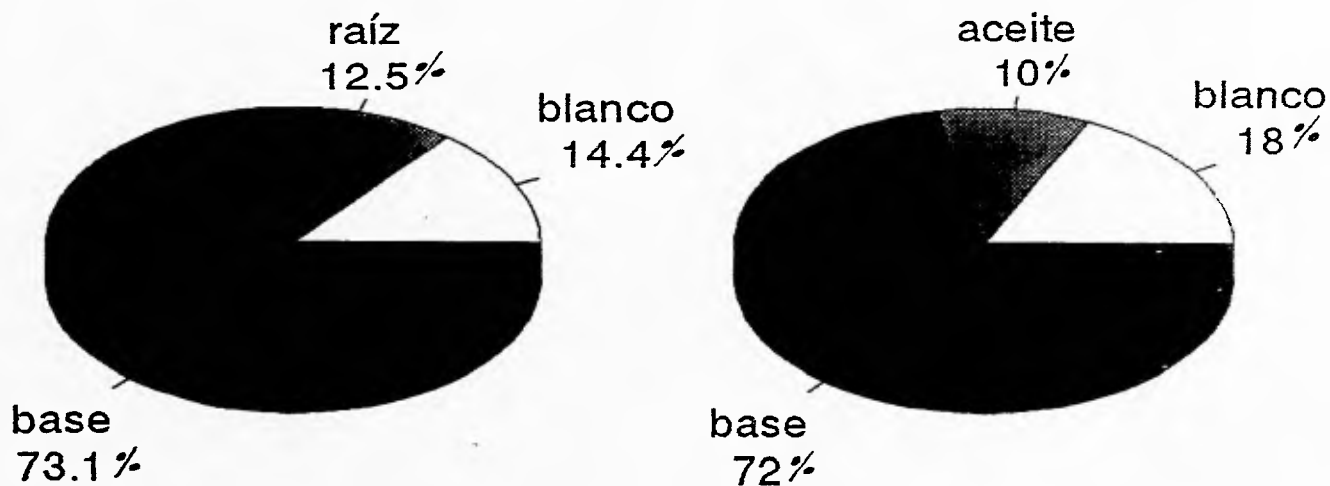
(\* Representa el porcentaje de insectos que se quedaron en la base de acuerdo al experimento sin material de prueba ver tabla 14).

TABLA 16. EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE *T. castaneum*

insectos de prueba	Promedio de insectos atraídos al aceite	Promedio de insectos atraídos al blanco	Promedio de insectos en la base	IR
20	2±2.5	3.6±2	14.4±3.5	4.5

La figura 12 muestra la comparación del efecto de la raíz seca y la del aceite esencial, donde se observa que en ambos casos la mayoría de los insectos se queda en la base del olfatómetro.

Figura 12. Efecto de la raíz y el aceite de *A. orbicularis* sobre *T. castaneum*.



Puede observarse que el tratamiento de los datos es diferente que en el caso de *S. zeamais*, ya que la prueba control indicó que sin nada en las ramas del olfatómetro la mayoría de los insectos el 62% se quedan en la base, a diferencia de *S. zeamais* que se va en un 90% a las ramas del olfatómetro. Puede decirse que la repelencia en éste caso es muy ligera y es mayor en el aceite que en la raíz. Comparando los índices de repelencia de la raíz para *S. zeamais* (15.1) (ver pagina 30) y para *T. castaneum* (3.7) (ver pagina 43), se observa menor el efecto sobre *T. castaneum*

De las fracciones obtenidas en la cromatografía en columna, del aceite se hicieron pruebas de repelencia en el olfatómetro de cristal en el cual en una de las ramas se colocó 0.8ml de esencia de cada fracción, y en la otra rama papel filtro como blanco y *Tribolium castaneum* como material entomológico, obteniéndose los siguientes resultados tabla 17.

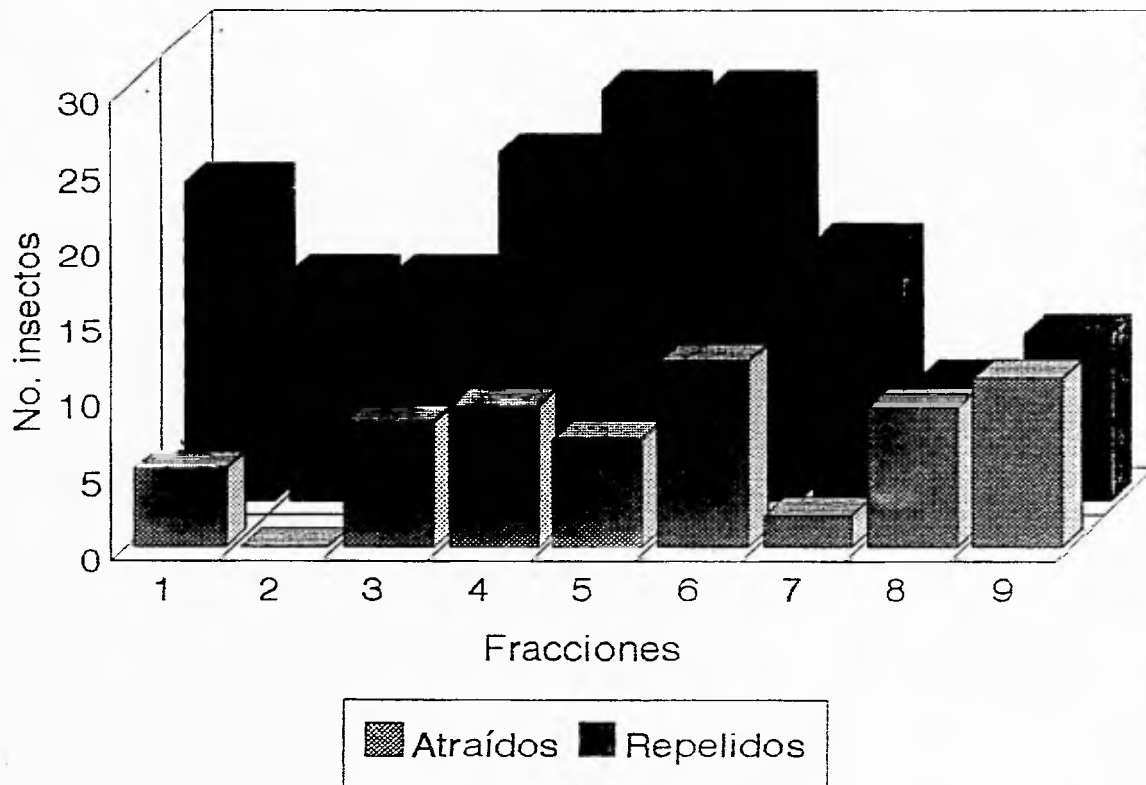
TABLA 17. INDICE DE REPELENCIA DE CADA UNA DE LAS FRACCIONES DEL ACEITE ESENCIAL SOBRE *T. castaneum*

Fracción	% de insectos en la base	% de insectos en el blanco	% de insectos atraídos	IR
1	56	35	8.3	6.8
2	71.6	25	0	∞
3	61.6	25	13.3	3.6
4	46.6	38	15	3.71
5	43.3	45	11.6	5.29
6	35	45	20	2.91
7	68	28.3	3.3	16.40
8	71.6	13.3	15	2.7
9	63.3	18.3	18.3	2.3

Puede verse que un gran número de insectos se quedan en la base. El índice de repelencia (IR) se calculó dividiendo el número de insectos que se van a la rama blanco del olfatómetro, entre los que se van a la rama que tienen aceite siendo los que se van a la rama que contiene al aceite un porcentaje muy bajo de insectos que son repelidos por el aceite.

En la figura 13 puede verse que las fracciones 2 y 7 fueron las de mayor efecto repelente.

Fig.13. Efecto atrayente de las fracciones del aceite esencial de la raíz de *A.orbicularis* sobre *T.castaneum*.



A las fracciones obtenidas se les realizó una cromatografía de gases eligiéndose los componentes más abundantes y se les comparó por su tiempo de retención (Tabla 18).

TABLA 18. VOLATILES DE FRACCIONES CON MAYOR EFECTO REPELENTE

FRACCION II		FRACCION VII	
TR	%	TR	%
-	-	2.26	3.78
-	-	5.11	1.30
-	-	6.46	1.62
-	-	8.34	1.69
12.06	15.63	-	-
13.19	6.50	13.22	13.05
-	-	13.59	1.76
-	-	13.76	2.68
-	-	15.33	2.01
-	-	16.52	2.54
19.04	3.09	19.03	1.87
20.62	4.48	-	-
21.99	2.94	-	-

De la tabla anterior encontramos que algunos TR como (13.19-13.22;19,04-19.03) son compartidos por ambas fracciones, siendo los componentes del resto del aceite fraccionado diferente.

Se realizaron bioensayos con la extracción del aceite completo, pero con el tratamiento (2 hrs. en la estufa a 30°C y una semana de reposo), donde se usó 0.8ml de aceite esencial y 0.8ml de hexano que se dejó evaporar. Se obtuvieron los siguientes resultados tabla 19.

TABLA 19. EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL CON TRATAMIENTO SOBRE *T. castaneum*

insectos de prueba	Promedio de insectos atraídos al aceite tratado	Promedio de insectos atraídos al blanco	Promedio de insectos en la base	TR
20	1.6±3	2.21±5	16.2±4	5.22

Comparando este índice de repelencia con el del aceite sin tratamiento (3.4) (ver pagina 43), puede sugerirse que en el calentamiento se pierden algunos componentes que ejercen alguna repelencia. Los resultados, sin embargo no pueden considerarse significativos.

El índice de repelencia de la raíz completa en el olfatómetro con maíz se muestra en la tabla 20.

TABLA 20. INDICE DE REPELENCIA EN BIOENSAYOS CON MAIZ COMO BLANCO

insectos de prueba	Promedio de insectos atraídos al maíz	Promedio de insectos atraídos a la raíz	Promedio de insectos en la base	IR
20	4.5±1	5.5±2.5	61.25±17.5	5.05

De acuerdo a los resultados anteriores indican que los volátiles de la raíz de *Aristolochia orbicularis* aparentemente no tienen efecto significativo como atrayente o repelente para *Tribolium castaneum* ya que el insecto continúa sin responder al estímulo del medio que en este caso es la presencia de maíz.

Con base en los análisis realizados, sería conveniente utilizar un mayor número de repeticiones en los bioensayos, principalmente en los que resultaron no significativos.

De los resultados obtenidos en el olfatómetro de madera (Bestman, 1991) realizados con *S. zeamais*, el porcentaje de insectos fuera de las cajas con material de prueba fue muy elevado por tal motivo, se decidió no realizar bioensayos con el olfatómetro de madera usando a *Tribolium castaneum* como material entomológico.

## COMPOSICION DEL ACEITE ESENCIAL

El aceite esencial aislado de *Aristolochia orbicularis* presenta gran cantidad de componentes siendo los más abundantes: borneol, formato de bornilo, acetato de cis carvilo, acetato de terpenilo, cariofileno, germacreno,

$\beta$ -ionona,  $\alpha$  cadineno y  $\delta$  cadineno. Hasta ahora algunos componentes no han sido identificados, la identificación fue llevada a cabo por el Dr. Rauscher en la Universidad Erlangen-Nürnberg Alemania mediante una cromatografía de gases-masas.

#### 4.0.- CONCLUSIONES

- Se mostró que el polvo de raíz de *A. orbicularis* repele al picudo del maíz *S. zeamais*.
- La raíz seca tiene mayor efecto que la raíz fresca. La pérdida de algunos componentes podrían explicar la diferencia.
- La raíz seca de la zona baja "Lagunitas" tiene un mayor efecto de repelencia que la raíz seca de la zona alta "Encinal".
- Se aislaron los aceites esenciales de la zona alta "Encinal" y de la zona baja "Lagunitas" de Xochipala, Aunque su composición es ligeramente diferente su actividad sobre *S. zeamais* es similar.
- El aceite esencial tiene el mismo efecto que la raíz.
- Las fracciones de diferente polaridad del aceite tienen un efecto diferente sobre el insecto, siendo 3 fracciones de mayor efecto de repelencia para *S. zeamais*.
- Se comparó la composición de las fracciones con mayor actividad mediante el tiempo de retención de sus componentes más abundantes. Siendo la composición de cada fracción diferente.
- El efecto del aceite (completo, fraccionado y con tratamiento) de *A. orbicularis* sobre el comportamiento de *T. castaneum* fue menor que sobre *S. zeamais*.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



## 5.0.- BIBLIOGRAFIA

- Arenas, C. 1994. Notas de la conferencia impartida en el diplomado internacional de "Plantas medicinales de México" Las plantas como insecticidas Universidad Autonoma de Chapingo Méx. Jul. 1994
- Arenas, C. 1984 Extractos Acuicos y Polvos vegetales con propiedades insecticidas: una alternativa por explorar. Tesis de licenciatura Facultad de Ciencias UNAM, México.
- Ayala, R. 1992 Revisión de las abejas sin aguijon de México. Tesis de Maestría Facultad de Ciencias UNAM México pp 40-41
- Bello, M. 1994 Estudio etnobotánico y químico del pega hueso *Euphorbia tanquehuete* Sessé et Moc. en Xochipala, Mun. de Eduardo Neri Guerrero.
- Bestmann, H.J.; Pietschann, M.; Steinmeier, K. and O. Vostrowsky. Z. 1991. Flüchtige Inhaltsstoffe von *Crotalaria ochroleuca* und deren Wirkung auf Schadinsekten *Naturforsh.* 46c, 579-584.
- Borror, D. J. 1976 An Introduction to the study of Insects. Ed. Rinehart y Winston. New York, 852 pp.
- Buttery, R. G. and Kamm, J. J. 1981 Volatile components of alfalfa: Possible Insect Host Plant Attractants. *J. Agric. Food Chem.* 28: 978-981
- Conafrut. Memorias sobre el segundo simposium sobre la Agroindustria del Limón. México. Mayo de 1984
- Campbell, R. 1994 Biology Concepts and Conection . Ed.. Benjamin Canning New York pp.376-379
- Charalambous, G. 1978 Analysis of foods and beverages. Headspace Techniques Academic Press USA
- Chester T. ; Pinkston J. and Raynie D. 1992. Supercritical Fluid Cromatography and Extraction. *Anal. Chem* 64: 153R-170R.
- Dirinck, P. Schreyen L.nd Schamp, N. 1977. Aroma Quality evaluation of tomatoes, aples and strawberries. *J. Agric. Food Chem.* 25 (4) 759-763.

- Elliott, M. 1977. Synthetic pyrethroids En: Synthetic pyrethrum the natural insecticide. Academic Press. New York and London. pp.1-28
- Elliott, M. and Janes, N. F. 1973. Chemistry of de Natural pyrethrins En: Pyrethrum the natural insecticide. Academic Press. New York
- Forson, J. 1986. Papeles: El maíz alimento para el hombre No. 15 Ed. Cocoyoc S.A. México D. F.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de climática de Köpen Universidad Nacional Autónoma de México. 71 pp.
- Gaona, F. C. 1991. Estudio Etnobotánico de los magueyes en Xochipala Guerrero. Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias UNAM. México
- González, F. 1990 Flora de Colombia: Aristolochiaceae. Ed. Instituto de Ciencias Naturales Museo de Historia Natural Bogotá Colombia pp. 39-43.
- Hegnauer, R. 1966. Chemotaxonomie der Pflanzen 3, 184-639
- Hill, D. 1978. Agriculture Insect Pests of the tropics and their control. Ed. Cambridge University. Great Britain. pp.363-388
- Jennings, W. G. 1977. Comparison of sample preparation techniques for gas chromatographic analysis. J Agric food Chem, 25: 440-445.
- Knudsen, J. Tollsten L. and Bergstrom G. 1992. Floral Scents Phytochemistry 33,2 253-80.
- Kováts E., Gas-chromatographische 1958. Charakterisierung organischer Verbindungen Helv. Chim. Acta, 41, 1915.
- Lagunes, T. A. 1982 Manejo de insecticidas piretroides. Centro de Entomología y Acarología, C.P. Chapingo, Méx. 27pp.
- Marsin M. ; Smith R. 1993. Application of Supercritical Fluid Extraction and Chromatography to the Analysis of Turmeric. J, Chromatog. Soc. 31: 20-25
- Mc. Laughlin, G.A. 1973. History of pyrethrum. insecticide. En:Pyrethrum the natural insecticide Academic Press. New York p.p.3-15

- Morón, M. 1988. Entomología Práctica. Ed. Instituto de Ecología, A.C. México D.F. pp. 177-209
- Moshonas, G. M. and Shaw, P. E. 1981 Characterization of a new citrus component trans alfa- farnesene isomers from deshidration of farnesol. Agric. Food Chem. 28: 680-81
- Murray, K.E. 1977. Concentration of headspace, airborne and aqueous volatiles on chomosorb 105 for examination by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Jornal of chomatography* , 135:49-60
- Oyama, K. 1986. ¿Herbivoros y plantas cómo interactúan? Ciencias No. 9 México 38-46.
- Ramírez, M.1981. Insectos y almacenamiento de granos. *Naturaleza* vol. 2 México 92-102
- Rauscher, J. 1992. Phytochemische Untersuchugen zum Problem der Wechselwirkungen zwischen Pflanzen and Insekten. Tesis Doctoral Universidad Erlangen-Nürnberg. Alemania.
- Robles, R. 1983. Producción de granos y forrajes Ed. Limusa Méx.. 608 pp
- Rzedowki, J. 1986 Vegetación de México Ed. Limusa Méx. D.F. 431pp
- Sánchez, G., Albores M, and Del Rio F. 1990. Volátiles of *Sargentia gregii*. *Phytochemistry*, 30,6 :1915-1916
- Schulz, B. 1957 *Wissenschaftliche und praktische pharmazie* Osterr, Apotheker Ztg. 11 216-219.
- Schultz, T. H.; Flath, R.A.; Mon, R.; Eggling, S.B. and Teranishi, R. 1977. Isolation of volatiles components from a model system. *J Agric Food Chem* 25: 446-449.
- Shurtleff, C. 1980. *Compedium of corn Dieases* The American phytopathological society Minnesota U.S.A. pp. 17-22
- Teranishi, R. Flavor Research Advances. Marcel Dekker Inc. N.Y. (1981)

Urzúa A., Salgado G., Cassels B. and Eckhart 1982 Aristolochic acids in *Aristolochia chilensis* and the *Aristolochia*-Feeder *Battus archidamas* Collect czech chem 48, 1513-1519.

Vélez, L.E. 1974 "Notas del curso de Parasitología Agrícola" Depto. de Parasitología. Chapingo, Méx.

Vélez, L.L. 1977 "Notas del curso de Parasitocidas Agrícolas" Escuela Nacional de Agricultura.

Wilkinson, C.F. 1976. Insecticide Biochemistry and Physiology, plenum Press, New York .