



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE
EXTRACTOS VEGETALES EN LA
ALIMENTACIÓN DE *Spodoptera frugiperda*
(SMITH) COMO MODELO DE ESTUDIO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

P R E S E N T A

REGUERA SERRANO JOSÉ DE JESÚS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Patricia Guevara Fefer

COMITÉ TUTOR: Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez

MÉXICO, D.F.

Noviembre, 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE
EXTRACTOS VEGETALES EN LA
ALIMENTACIÓN DE *Spodoptera frugiperda*
(SMITH) COMO MODELO DE ESTUDIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

REGUERA SERRANO JOSÉ DE JESÚS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Patricia Guevara Fefer

**COMITÉ TUTOR: Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez**

MÉXICO, D.F.

Noviembre, 2011



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/642/11

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **8 de agosto de 2011** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** del (la) alumno (a) **REGUERA SERRANO JOSÉ DE JESÚS** con número de cuenta **96002483** con la tesis titulada "**Caracterización de la actividad de extractos vegetales en la alimentación de *Spodoptera frugiperda* (Smith) como modelo de estudio**", realizada bajo la dirección del (la) **DRA. PATRICIA GUEVARA FEFER:**

Presidente: DRA. ANA LUISA ANAYA LANG
Vocal: DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ
Secretario: DR. JOSÉ GUILLERMO ÁVILA ACEVEDO
Suplente: DRA. ANA MARÍA GARCÍA BORES
Suplente: DR. BALDOMERO ESQUIVEL RODRÍGUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 23 de noviembre de 2011

M^{te} del Coro Arizmendi
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa



MCAA/MJFM/ASR/grf*

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por el apoyo brindado para la realización del presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, por la beca otorgada.

A los miembros del comité tutorial por el apoyo brindado durante el desarrollo del presente trabajo.

Dra. Patricia Guevara Fefer.

Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez

Dr. Baldomero Esquivel Rodríguez

A los miembros del Jurado por sus valiosos comentarios y observaciones durante la revisión del escrito.

Dra. Ana Luisa Anaya Lang

Dr. José Guillermo Ávila Acevedo

Dra. Ana María García Bores

Agradecimientos personales

A la M. en C. Laura Patricia Lina García, Laboratorio de Control Biológico, CIEB, UAEM, por los ejemplares de *Spodoptera frugiperda* empleados para el establecimiento de la colonia del insecto.

A la M. en C. Beatriz Zúñiga Ruíz, Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, UNAM, por su apoyo técnico durante el desarrollo de los ensayos biológicos.

Al Biól. José Luis R. Contreras Jiménez, Departamento de Investigaciones Históricas del Movimiento Obrero, ECOMUSEO METEPEC-BUAP, por el apoyo en la recolecta y determinación de las especies.

Al Biól. Roberto Enrique Llanos Romero por la asesoría técnica brindada para el análisis cromatográfico.

Al Biól. Alejandro Alberto Martínez Ramírez, por su apoyo en la realización de ensayos biológicos.

A la

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

por todo lo que me ha brindado a lo largo de los 17 años que he podido ser parte de esta noble institución

A mi familia: Abuelos, Tíos, Primos, Hermano y Sobrino, por comprender la causa de mis ausencias.

Padres: nuevamente quiero culparles por mis logros, pues los obtengo gracias a las enseñanzas y valores que inculcaron en mi persona. Los fallos son solo míos, por favor no lo olviden.

Hermana: en el proceso de este trabajo has sido un apoyo y un aliciente, gracias por esto en particular y por todo en general.

A mi gato, por su compañía.

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias, por todos los gratos momentos y las enseñanzas que me han dado.

A mis Amigos que han estado a mi lado durante este tiempo, he notado que ustedes son mas de los que puedo mencionar y me angustia pensar que alguno pudiera ser omitido por un olvido involuntario (ustedes saben lo común que es esto en mí), por eso quiero agradecerles a TODOS ustedes. Seguramente en persona ya he mencionado a cada uno de ustedes lo que han significado en mi vida.

Y por qué no, también agradezco a aquellos Amigos que dieron un paso al costado, a final de cuentas eso también me ha ayudado a crecer como persona.

Índice general

	Pag.
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Hipótesis	5
Objetivo general	5
Objetivos particulares	5
Antecedentes	6
Respuestas de las plantas ante el daño por herbívoros	6
Metabolitos secundarios	7
Metabolitos involucrados en la protección de las plantas.....	8
Modos de acción de los metabolitos secundarios.....	10
Productos vegetales como alternativa al uso de insecticidas	12
Ensayos biológicos	14
Ensayos biológicos en la búsqueda de antialimentarios.....	15
Ensayos biológicos con dieta artificial.....	16
Ensayos biológicos con discos foliares.....	17
Importancia económica y ciclo de vida de <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
El género <i>Bursera</i>	19
Distribución.....	20
Taxonomía.....	21
Importancia.....	22
Química y actividad biológica.....	22
El género <i>Bursera</i> y su actividad frente a insectos.....	29

Metodología	33
Recolecta de material.....	33
Sitios de recolecta	33
Descripción de las especies	34
Secado y molienda del material.....	35
Ensayos de larga duración con dieta artificial empleando hoja seca.....	36
Obtención de extractos	36
Análisis de los extractos	37
Ensayos de larga duración con dieta artificial suministrando extractos	37
Ensayos de corta duración con discos foliares	37
Ensayo de selección.....	39
Ensayo de no selección.....	40
Evaluación de la actividad acetilcolinesterasa	42
Análisis cromatográfico de los extractos	44
Cromatografía en capa fina (CCF)	44
Resultados	46
Rendimiento de los extractos.....	46
Ensayos de larga duración con hoja seca incorporada a la dieta	46
Ensayos de larga duración con extracto incorporado a la dieta.....	52
Tratamiento con extractos hexánicos	52
Tratamiento con extractos de acetato de etilo.....	56

Tratamiento con extractos metanólicos	62
Ensayos de corta duración	67
Inhibición de acetilcolinesterasa.....	69
Extractos hexánicos	69
Extractos de acetato de etilo	69
Extractos metanólicos.....	70
Análisis cromatografico de los extractos.....	73
Análisis de los extractos hexánicos	73
Análisis de los extractos de acetato de etilo	74
Análisis de los extractos metanólicos.....	75
Análisis de densitometría por videoscanner	78
Extractos hexánicos	78
Extractos de acetato de etilo	79
Extractos metanólicos.....	81
Discusión	83
Conclusiones	87
Anexo	88
Bibliografía	89

Índice de imágenes y gráficas

Imagen 1. Diagrama general de las rutas biosintéticas de los metaboltios secundarios	7
Imagen 2. Diagrama de los diferentes ensayos para evaluar antialimentarios	16
Imagen 3. Mapa de distribución del genero <i>Bursera</i> en México	20
Imagen 4. Diagrama de las perforaciones realizadas en la cama de agar, para los ensayos de corta duración	38
Imagen 5. Arreglo de discos foliares tratados y control presentes en ensayo de selección	39
Imagen 6. Arreglo de los discos foliares presentes en las cajas correspondiente al ensayo de no selección.....	40
Gráfica 1. Registro de talla de los tratamientos con hojas secas de las tres especies de <i>Bursera</i>	47
Gráfica 2. Registro de peso de los tratamientos con hojas secas de las tres especies de <i>Bursera</i>	48
Gráfica 3. Registro de mortandad semanal para los tratamientos con hoja seca de las tres especies de <i>Bursera</i>	49
Gráfica 4. Registro de porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia con hoja seca de las tres especies de <i>Bursera</i>	50
Gráfica 5. Registro de la proporción de sexos con hoja seca de las tres especies de <i>Bursera</i>	51
Gráfica 6. Registro de talla de los tratamientos con extracto hexánico de las tres especies de <i>Bursera</i>	52
Gráfica 7. Registro de peso de los tratamientos con extracto hexánico de las tres especies de <i>Bursera</i>	53
Gráfica 8. Registro de mortandad semanal con extracto hexánico de las tres especies de <i>Bursera</i>	54

Gráfica 9. Registro de porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia con extracto hexánico de las tres especies de <i>Bursera</i>	55
Gráfica 10. Registro de la proporción de sexos para los tratamientos con extracto hexánico de las tres especies de <i>Bursera</i>	56
Gráfica 11. Registro de talla de los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de <i>Bursera</i>	57
Gráfica 12. Resultados obtenidos del registro de peso de los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de <i>Bursera</i>	58
Gráfica 13. Registro de mortandad semanal para los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de <i>Bursera</i>	59
Gráfica 14. Registro de porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia para los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de <i>Bursera</i>	60
Gráfica 15. Registro de la proporción de sexos para los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de <i>Bursera</i>	61
Gráfica 16. Registro de talla de los tratamientos con extracto de metanólico de las tres especies de <i>Bursera</i>	62
Gráfica 17. Resultados obtenidos del registro de peso de los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de <i>Bursera</i>	63
Gráfica 18. Registro de mortandad semanal para los tratamientos con extractos metanólicos de las tres especies de <i>Bursera</i>	64
Gráfica 19. Registro de porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia de los tratamientos con extracto metanólico de las tres especies de <i>Bursera</i>	65

Gráfica 20. Registro de la proporción de sexos para los tratamientos con extracto metanólico de las tres especies de <i>Bursera</i>	66
Gráfica 21. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa por efecto del extracto de acetato de etilo de <i>B. copallifera</i>	69
Gráfica 22. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa por efecto del extracto de acetato de etilo de la especie <i>B. lancifolia</i>	70
Gráfica 23. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa por efecto del extracto metanólico de <i>B. copallifera</i>	71
Gráfica 24. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa por efecto del extracto metanólico de la especie <i>B. lancifolia</i>	71
Imagen 7. Placas cromatográficas de los extractos hexánicos	73
Imagen 8. Placas cromatográficas de los extractos de acetato de etilo	74
Imagen 9. Placas cromatográficas de los extractos metanólicos.....	75
Imagen 10. Placa cromatográfica de los extractos de acetato de etilo con estándares internos de flavonoides revelada con RPN	76
Imagen 11. Placa cromatográfica de los extractos metanólicos con estándares internos de flavonoides revelada con RPN	77

Índice de tablas

Tabla 1. Metabolitos involucrados en la protección de las plantas	8
Tabla 2. Asignación de eficacia como antialimentario en base al porcentaje de protección	18
Tabla 3. Resumen de los trabajos referentes al aislamiento y evaluación de la actividad biológica de especies del género <i>Bursera</i>	23
Tabla 4. Rendimientos obtenidos para la extracción de las tres especies	46
Tabla 5. Índices de disuasión e índices antiapetitivos de los extractos hexánicos	67
Tabla 6. Índices de disuasión e índices antiapetitivos de los extractos de acetato de etilo	68
Tabla 7. Índices de disuasión e índices antiapetitivos de los extractos Metanólicos	68
Tabla 8. Concentración inhibitoria 50 de extractos sobre acetilcolinesterasa.....	72
Tabla 9. Análisis de los extractos hexánicos por videoscanner.....	78
Tabla 10. Porcentaje de similitud entre extractos hexánicos.....	79
Tabla 11. Análisis de los extractos de acetato de etilo por videoscanner.....	80
Tabla 12. Porcentaje de similitud entre extractos de acetato de etilo.....	81
Tabla 13. Análisis de los extractos metanólicos por videoscanner	82
Tabla 14. Porcentaje de similitud entre extractos metanólicos	82

Resumen

En el presente trabajo se llevó a cabo la evaluación de hojas secas y extractos orgánicos (hexánicos, de acetato de etilo y metanólicos) de tres especies del género *Bursera* sobre la alimentación de *Spodoptera frugiperda*, un insecto modelo. Las especies utilizadas fueron: *B. copallifera*, *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*. Se llevaron a cabo ensayos de larga duración con dieta incorporando hoja seca (10%) y extractos (1000 ppm), así mismo se evaluó la actividad de los extractos a 1000 ppm mediante ensayos de corta duración.

Se llevó a cabo la valoración de la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa y un análisis semicuantitativo por cromatografía en capa fina a fin de comprobar las semejanzas entre los extractos de las diferentes especies.

Las hojas secas de las tres especies causan reducciones de hasta un 70% en la ganancia de peso y una mortandad superior al 40%. Se obtuvieron reducciones de peso de 50% y una mortandad cercana al 60%, en los tratamientos con extractos hexánicos. Los extractos de acetato de etilo causaron una reducción de peso de hasta 70% y una mortandad mayor al 80%. Finalmente los efectos provocados por los extractos metanólicos significaron reducciones de 50% en el peso, así como un aumento en la mortandad de hasta un 60%. Todas las diferencias mencionadas fueron estadísticamente significativas.

Los ensayos de corta duración permitieron determinar que los tres extractos de *B. vejar-vazquezii* tienen una actividad disuasiva. Los extractos de acetato de etilo y metanólicos de *B. copallifera* y *B. lancifolia* presentaron actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa.

Nuestros resultados ponen de manifiesto un efecto significativo de los extractos de dos especies de *Bursera* evaluados sobre los parámetros de desarrollo de *Spodoptera frugiperda*, así como una inhibición de la acetilcolinesterasa. Lo anterior sugiere continuar con evaluaciones a nivel de la fisiología de la alimentación, como son la actividad de las enzimas involucradas en la alimentación, así como realizar un fraccionamiento biodirigido de aquellos extractos que muestren la mayor actividad en los parámetros antes mencionados a fin de caracterizar los compuestos involucrados en la actividad inhibitoria.

Abstract

This work presents the results of the assessment that was carried out of dried leaf and organic extracts (hexane, ethyl acetate and methanol) of three species of *Bursera* on the feeding of *Spodoptera frugiperda*, a model insect. The species used were: *B. copallifera*, *B. lancifolia* and *B. vejar-vazquezii*.

Long term assays were carried out with artificial diet incorporating dried leaf (10%) or extracts (1000 ppm), also the activity of the extracts at 1000 ppm was evaluated through short-term assays. Acetylcholinesterase inhibitory activity of the extracts were tested, and a semiquantitative analysis by thin layer chromatography were performed in order to verify the similarities between the extracts of the different species.

The results of the long term assays show that the dried leafs of the three species caused 70% of weight reduction and mortality above 40%. Weight reductions of 50% and a mortality approaching 60% were obtained with the hexane extract. The ethyl acetate extracts caused a weight reduction of 70% and mortality above 80%. Finally, the effects caused by methanol extracts were weight reduction of 50% as well as the increasing of mortality above 60%. All these differences were statistically significant.

The short term assays established that the three extracts of *B. vejar-vazquezii* have deterrent activity. The ethyl acetate and methanol extracts of *B. copallifera* and *B. lancifolia* showed inhibitory activity of the enzyme acetylcholinesterase.

These results reveal the effect of the two extracts of the species assayed on the evaluated insect developmental parameters as well as an inhibition of the acetylcholinesterase. This suggests further assessments should be carried on the insect physiology of food digestion, like the activity of enzymes involved, as well as a bio-directed fractionation of those extracts which show the higher activity in the previously mentioned parameters in order to define the compounds involved in the inhibitory activity.

Introducción

El presente trabajo forma parte de un proyecto, que tiene como principal objetivo la búsqueda de especies vegetales con “potencial insecticida”, teniendo en cuenta los múltiples reportes que existen acerca de la participación de metabolitos secundarios, tales como terpenos, flavonoides y alcaloides, entre otros, en la relación planta-insecto, como mediadores de la alimentación, actuando como antialimentarios, disuasorios, repelentes, tóxicos etc.

Uno de los géneros representativos en México con una amplia diversidad de especies es *Bursera*, del cual se reporta que sintetiza compuestos de tipo terpénico y flavonoide; estos compuestos han sido asociados a un efecto de repelencia de insectos en campo como lo han documentado diversos trabajos (Becerra y Lawrence 1999; Evans *et al.* 2000; Becerra *et al.* 2001).

La evaluación referente a la actividad insecticida inició con la preparación de extractos orgánicos de tres especies de *Bursera*: *B. copallifera*, *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*. Estos extractos fueron utilizados posteriormente para evaluar el efecto sobre el desarrollo, (talla y peso, mortandad, porcentaje de pupación y de emergencia de adultos, y proporción de sexos). Lo anterior se llevó a cabo a través del suministro de hojas secas de las tres especies y de extractos de polaridad creciente de las mismas, suministrados en la dieta artificial del insecto durante su ciclo de vida en condiciones de laboratorio.

En una etapa posterior del trabajo se realizó la evaluación de la actividad anti alimentaria y/o disuasoria de los extractos a través de ensayos de corta duración. Los resultados acerca de estas evaluaciones, en primer lugar permiten determinar un efecto en la alimentación del insecto. Sin embargo, aunque existen numerosos trabajos encaminados al aislamiento y determinación estructural de compuestos químicos, poco se sabe sobre los efectos fisiológicos que causan en los insectos y los mecanismos que éstos desarrollan frente a dichos compuestos químicos.

Considerando que diversas actividades enzimáticas en los insectos se ven afectadas por acción de los constituyentes de los extractos, se evaluó la actividad de la acetilcolinesterasa, enzima importante en la trasmisión del impulso nervioso, y que puede afectarse por los

metabolitos secundarios de estos extractos. Los resultados mostraron que los extractos de acetato de etilo y metanólicos de dos especies: *B. copallifera* y *B. lancifolia* tienen actividad sobre esta enzima.

Con el fin de corroborar la presencia de terpenos y flavonoides en las especies trabajadas y realizar la comparación del perfil de estos compuestos en los extractos orgánicos, se llevó a cabo un análisis cromatográfico que permitiera realizar además una comparación del perfil de estos compuestos en las diferentes especies y una correlación con la actividad biológica evaluada.

El trabajo se estructuró con los siguientes apartados.

Antecedentes, los cuales incluyen los aspectos más destacados sobre metabolitos secundarios involucrados en la relación planta-insecto, la importancia de éste tipo de compuestos como fuente de sustancias de origen natural para el control de plagas, los modos de acción de estos metabolitos, así como antecedentes sobre la utilización de modelos biológicos para la evaluación sobre la alimentación de extractos vegetales.

Se realizó una revisión bibliográfica a fin de conocer el estado actual de la investigación de la química del género *Bursera*, misma que servirá de precedente para la continuación de este trabajo acerca de la química en especies no estudiadas y conocer los compuestos involucrados en la actividad biológica.

Metodología, en esta sección se describen los distintos métodos empleados en cada una de las partes experimentales como son, ensayos de larga y corta duración con *S frugiperda*, pruebas de inhibición de la acetilcolinesterasa y el análisis por cromatografía en capa fina de los extractos de las tres especies de *Bursera*.

Resultados, se describen los resultados obtenidos mediante cada una de las metodologías.

Discusión general, se presenta una discusión de los resultados integrando los resultados de los distintos ensayos y la relación existente entre éstos.

Conclusiones, finalmente se exponen las conclusiones a las que se llega al finalizar el presente trabajo.

Hipótesis

Las especies del género *Bursera* seleccionadas para el presente trabajo contienen metabolitos secundarios que pueden actuar sobre el desarrollo de *Spodoptera frugiperda* de forma directa, inhibiendo su alimentación, lo cual se verá reflejado en los parámetros evaluados (talla, peso, mortandad, proporción de sexos) durante los experimentos de alimentación con extractos crudos de las especies de *Bursera*.

Objetivo General

Contribuir al conocimiento de la actividad biológica de tres especies del género *Bursera*: *B. copallifera*, *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*, en el crecimiento y desarrollo de un insecto modelo *Spodoptera frugiperda*.

Objetivos particulares

- Determinar la influencia de las hojas secas y de los extractos de hoja de las tres especies de *Bursera* sobre los parámetros de talla, peso, mortandad, pupación, emergencia y proporción de sexos, durante el ciclo de vida del insecto modelo.
- Establecer la actividad antialimentaria y/o disuasiva de los extractos orgánicos a través de ensayos de corta duración.
- Evaluar el efecto de los extractos de las tres especies de *Bursera* sobre la actividad de la acetilcolinesterasa del insecto modelo, enzima importante en la transmisión de impulsos nerviosos.
- Comparar el perfil cromatográfico, especialmente de terpenos y flavonoides, de los extractos orgánicos de las tres especies que permita discutir las actividades evaluadas.

Antecedentes

Respuestas de las plantas ante el daño por herbívoros

Las plantas han desarrollado distintas estrategias que les permiten evitar que el consumo por parte de los herbívoros sea perjudicial para la supervivencia de las plantas. Entre las cuales es posible diferenciar cuatro grandes clases: las fenológicas, las de asociación, las físicas y las químicas. Anaya (2003) las define del siguiente modo:

Estrategias fenológicas: Para evitar la depredación los organismos pueden escapar, ya sea física o temporalmente, dado que las plantas son organismos sésiles la primera opción se encuentra restringida. Las estrategias de escape en las plantas se refieren a pasar desapercibidas o bien a escapar temporalmente, es decir desfasan los tiempos de sus ciclos de vida de los tiempos en los que es más probable tener una depredación excesiva por parte de organismos patógenos o herbívoros.

Estrategias de asociación. En algunos casos las plantas han desarrollado una relación mutualista con otro organismo como son hormigas, hongos o bacterias, siendo éstos los encargados de evitar una depredación excesiva de la planta.

Estrategias físicas. Se centran en disminuir el consumo por medio de impedimentos físicos como son las espinas, tricomas, mayor porcentaje de fibra en los tejidos, endurecimiento y engrosamiento de cutícula y cortezas así como el aumento de la lignificación de las paredes celulares.

Estrategias químicas: Se basan en el metabolismo secundario de las plantas y los efectos tóxicos o repelentes que estos compuestos pueden tener sobre los herbívoros; esta estrategia comprende alternativas como ductos llenos de resinas, concentración de fenoles en tejidos o acumulación de compuestos en células especializadas.

Metabolitos secundarios

Las estrategias químicas de las plantas, en las que nos enfocaremos, comprenden principalmente a los “metabolitos secundarios” (Fraenkel, 1959).

Los metabolitos secundarios se pueden agrupar de distintos modos, una forma útil es por su origen biosintético (**Imagen 1**)

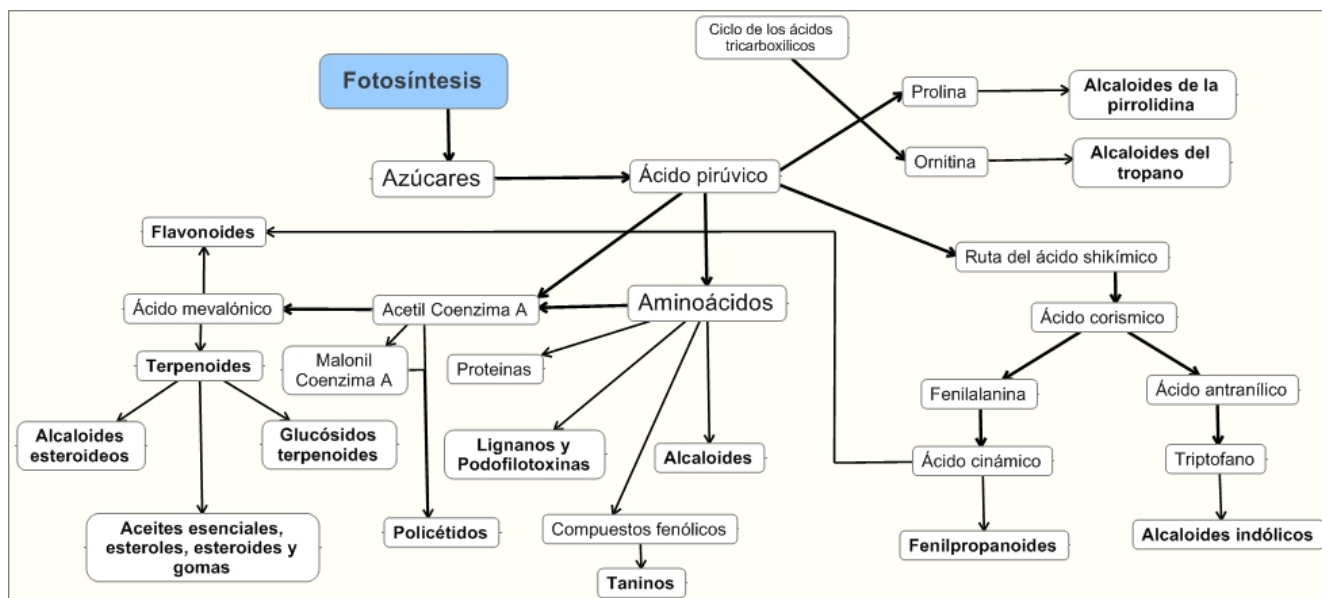


Imagen 1. Diagrama general de las rutas biosintéticas que originan a los metabolitos secundarios (modificado de Ramawat y Mérillon, 2007).

En años recientes, la investigación de estos metabolitos secundarios ha brindado suficiente información como para aseverar que una gran cantidad de plantas y animales producen sustancias capaces de modificar el crecimiento, comportamiento desarrollo o distribución de otros organismos (Koul, 2005)

Los metabolitos secundarios pueden ser clasificados con base en el efecto que producen sobre otros organismos, de acuerdo a Harborne (1993) la clasificación es la siguiente:

- Tóxicos: compuestos que producen efectos adversos en el equilibrio fisiológico de los organismos, en algunas ocasiones provocan la muerte de insectos y otros organismos.
- Biomiméticos: aquellas sustancias capaces de interferir con las funciones endocrinas de los organismos que controlan los procesos de crecimiento, muda y maduración sexual, lo que altera los ciclos reproductivos.
- Fenológicos: engloban a una serie de metabolitos capaces de producir cambios en el comportamiento de los organismos, ejemplos claros son los fagoestimulantes, estimulantes de la oviposición, inhibidores y disuasores de la alimentación.

Metabolitos involucrados en la protección de plantas

Una forma de agrupar a estos metabolitos involucrados en la protección de las plantas es tomando como base su estructura química como se ve en la **Tabla 1** de acuerdo a Anaya (2003).

Tabla 1. Metabolitos involucrados en la protección de las plantas agrupados por estructura química (Modificada de Anaya, 2003).

Tipo	Distribución	Actividad
Compuestos nitrogenados		
Alcaloides	Angiospermas	Tóxicos, repelentes y de sabor amargo, interferencia de neurotransmisores y sistemas de detoxificación.
Aminas	Angiospermas	Repelentes, teratogénicos, alucinógenos
Aminoácidos no proteicos	Fabaceae	Tóxicos
Glucósidos cianogénicos	Rosaceae, Sterculiaceae, Fabaceae, Asteraceae, Dioscoreaceae, Fagaceae, Anacardiaceae, Ericaceae, Scrophulariaceae	Tóxicos y venenosos
Glucosinolatos	Crucíferas	Sabor amargo

Cont. Tabla 1.

Tipo	Distribución	Actividad
Terpenoides		
Monoterpenos	Abundantes en los aceites esenciales	Olores agradables, (repelentes de insectos)
Sesquiterpenos y lactonas sesquiterpénicas	Asteraceae y otras angiospermas	Sabor amargo, tóxicas o alergénicas, juvenoides
Diterpenos	Abundantes en resinas y látex de diversas especies	Tóxicos
Saponinas	Presentes en más de 70 familias	Hemólisis de células sanguíneas
Limonoides	Rutaceae, Meliaceae, Simaroubaceae	Sabor amargo
Cucurbitacinas	Principalmente en Cucurbitaceae	Antialimentario de sabor amargo y tóxicas
Cardenólidos	Apocynaceae Asclepidaceae y Scrophulariaceae	Tóxicos y amargos
Compuestos fenólicos		
Fenoles simples	Universales en hojas	Antimicrobianos
Flavonoides	Universales en angiospermas, gimnospermas y helechos	Protección contra rayos UV, antialimentarios.
Rotenoides	Leguminosae	Actividad insecticida
Taninos	Pinaceae, <i>Quercus</i>	Reductores de la digestibilidad
Quinonas	Especialmente abundantes en Rhamnaceae	Reductores de la digestibilidad
Otros		
Policétidos	Compuestas y umbelíferas	Tóxicos
Esteroles	Ampliamente distribuidos	Interferencia en la metamorfosis
Oxalatos	Chenopodiaceae y Amarantaceae	Reducción de la digestibilidad
Piretrinas	Asteraceae (<i>Chrysanthemum</i>)	Actividad insecticida

Modos de acción de metabolitos secundarios

La actividad biológica de los metabolitos secundarios es amplia, el modo de acción y el nivel al que estos actúan se puede agrupar de la siguiente forma:

Toxinas

Las toxinas adquieren su toxicidad porque son capaces de alterar los procesos metabólicos normales en el organismo. Éstas adquieren carácter de mortales dependiendo de factores, como la concentración de la toxina o el estado físico del organismo (Harborne, 1993).

- Toxinas nitrogenadas: aminoácidos no proteínicos, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos, alcaloides y algunos péptidos.
- Toxinas no nitrogenadas: terpenos e hidrocarburos simples, glucósidos cardíacos, oxalatos, saponinas, furanocumarinas, quinonas, policétidos y aflatoxinas.

Hormonas de insectos

Las hormonas juveniles son indispensables en el crecimiento larval, así como en las etapas previas a la metamorfosis, éstas se encuentran relacionadas estructuralmente con los terpenos. En las plantas podemos encontrar varios análogos de las hormonas juveniles, el desequilibrio que éstas provocan en el ciclo de vida de los insectos puede tener distintas consecuencias, que pueden ir desde detener las etapas larvales hasta alcanzar la muerte por efectos secundarios (Harborne, 1993). Adicionalmente, a los análogos de hormonas juveniles algunas plantas presentan compuestos anti hormona juvenil, como el precoceno, estos compuestos inhiben la síntesis de la hormona juvenil alterando el desarrollo normal del ciclo de vida del insecto acelerando el paso de larva a adulto, lo que deriva en adultos imperfectos (Bowers, 1991 en Harborne 1993) y en algunos casos también infértiles (Brooks *et al.*, 1979 en Harborne 1993).

Disuasores de la alimentación

Los disuasores de la alimentación son compuestos capaces de modificar el comportamiento alimenticio de los insectos, en este caso inhiben o evitan el consumo de las plantas por parte de los insectos herbívoros. La eficacia de los disuasores de la alimentación dependerá del estado fisiológico del insecto, así como de su respuesta conductual al entrar en contacto por primera vez con el disuasor y en los encuentros subsecuentes. Adicionalmente se debe considerar que muchos disuasores de la alimentación pierden efectividad tras la exposición prolongada frente al herbívoro (Foster y Harris, 1997).

Antialimentarios

Desde que en 1962 Pradhan y colaboradores evaluaron el efecto antialimentario de los extractos de *Azadirachta indica* como sustancias que prevenían la alimentación de la langosta del desierto sobre algunas plantas, la investigación en este campo ha crecido tanto que se cuenta ya con un registro de cerca de 900 compuestos con actividad antialimentaria (Koul, 2005). Este tipo de sustancias producen un cambio en el comportamiento de los insectos herbívoros, con la finalidad de evitar el consumo de una especie vegetal, ejemplos de estos son la azadiractina y los diterpenos del clerodano (Isman, 2006).

Inhibidores de proteasas

Algunas plantas son capaces de sintetizar inhibidores de proteasas como respuesta a un daño por insectos herbívoros. Este tipo de sustancias interfieren con la digestión de las proteínas e indirectamente disminuyen el valor nutricional de la planta. Al evitar que el depredador sea capaz de aprovechar los aminoácidos contenidos en las proteínas de la planta, disminuye el aprovechamiento de las mismas por parte del depredador (Harborne, 1993; Lawrence y Koundal, 2002).

Volátiles atrayentes de depredadores

En algunas ocasiones la depredación de tejido vegetal por parte de los herbívoros libera al ambiente sustancias volátiles características que son capaces de alertar a un predador del

herbívoro en cuestión, es decir se dispara una relación tritrófica planta-herbívoro-depredador. Cabe señalar que este tipo de moléculas no sólo son detectadas por los depredadores, sino también por otras plantas de la misma especie, que reaccionan a dicha señal previendo una posible depredación por parte de un herbívoro. Ejemplos de este tipo de relaciones han sido documentados en especies como el maíz, el algodón y el frijol de soya (Harborne, 1993).

Inhibidores de neurotransmisores y canales iónicos.

Existe un grupo de compuestos químicos de carácter hidrofóbico con una gran afinidad por los receptores nicotínicos de acetilcolina en insectos, estas sustancias tienen una relación estructura-actividad con dichos receptores; esto provoca una excitación que desencadena parálisis y con el tiempo la muerte. Estos compuestos son altamente selectivos debido a la alta afinidad que tienen hacia estos receptores específicos de los insectos (Tomizawa, 1995 en Ishaaya, 2001).

Muchos compuestos hidrofóbicos están asociados con la inactivación de proteínas e inhibición de enzimas; una particularmente susceptible es la acetilcolinesterasa (Hansch y Deutsch, 1966 en Ryan y Byrne, 1988) presente en las uniones neuromusculares, además de tener función en sistema nervioso periférico (Ryan y Byrne, 1988). La acetilcolinesterasa es la enzima responsable de la hidrólisis de la acetilcolina, transformándola en colina y ácido acético (Sezer *et al.*, 2010), en las sinapsis colinérgicas del sistema nervioso central y el periférico. La inhibición de esta enzima aumenta la concentración y la acción de acetilcolina (Rollinger *et al.*, 2004 en Di Giovanni *et al.*, 2008).

Los canales dependientes de voltaje y del ácido γ -aminobutírico (GABA) así como los receptores de glutamato son sitios de acción para cierto tipo de compuestos insecticidas. La excitación o inhibición de éstos provoca una alteración de las señales nerviosas en el sistema nervioso central, lo que produce contracciones involuntarias y temblores (Ishaaya, 2001).

Productos vegetales como alternativa al uso de insecticidas

El uso de plantas o sus derivados en forma de tinturas o polvos con el fin de proteger las cosechas, se remonta a cerca de 2000 a.C. en culturas como la egipcia, china, griega o hindú (Isman, 2006). El uso de insecticidas sintéticos en el siglo XX comienza a partir de la Segunda Guerra Mundial, pero trajo consigo riesgos colaterales que no se habían contemplado en el comienzo de su aplicación intensiva. En retrospectiva se puede apreciar que son peligrosos para la salud del ser humano, costosos e ineficientes a largo plazo y además son dañinos para los ecosistemas (Pimentel *et al.*, 1992; Pingali y Roger, 1995; Newman, 1995; Skinner, *et al.*, 1996; Van der Werf, 1996; Conway en Pretty, 2005). Adicionalmente, el empleo indiscriminado de estos productos agravó la precaria situación agrícola de países como Pakistán, la India, México y Colombia pues los riesgos que estos insecticidas traían consigo; la alta toxicidad, la poca selectividad, la alteración del equilibrio de los ecosistemas y la bioconcentración representan un gran riesgo para la población humana de estos países. Pero el aspecto más dañino de los insecticidas sintéticos para la agricultura fue la selección de organismos resistentes y el resurgimiento masivo de plagas por la disminución de enemigos naturales (Ayala-Carcedo y Olcina, 2002).

La dependencia hacia sustancias químicas neurotóxicas para el control y manejo de plagas, principalmente por los riesgos que estos implican, ha promovido el interés hacia la investigación de métodos alternativos que disminuyan los riesgos ambientales asociados. De ahí la importancia de que nuevas alternativas para el control de plagas puedan encontrarse en los productos naturales y sus derivados sintéticos, ya que tienen la ventaja de poseer nuevos modos de acción, lo que reduce el riesgo de la resistencia cruzada. Así se puede ver que la mezcla de compuestos que se encuentra de manera natural en las plantas, actúa como presión selectiva multifactorial que retrasa el desarrollo de resistencia por parte de los insectos plaga. La investigación en esta área ha descubierto el sutil, pero efectivo, mecanismo de control de insectos plaga, lo cual implica la modificación de su comportamiento o la disuasión de su alimentación (Koul, 2005).

Se ha observado una tendencia de aumento en la utilización de productos vegetales para el control biológico, lo cual es obvio si consideramos que las plagas producen pérdidas en la agricultura (Altieri *et al.*, 1983). Como muestra de lo anterior existen cuatro grandes ejemplos del uso de productos vegetales para el control biológico de plagas agrícolas, como

son: el piretro, la rotenona, el Neem y los aceites esenciales de varias especies como crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*), ajo (*Allium sativum*) o pimienta negra (*Brassica nigra*) (Isman, 2006).

Ensayos Biológicos

Los ensayos biológicos son estrategias metodológicas que permiten evaluar la actividad de diferentes sustancias, como extractos, fármacos o compuestos puros, frente a distintos organismos (bacterias, hongos o insectos entre otros). Estos ensayos representan una herramienta útil en la búsqueda de compuestos biológicamente activos, ya sea como fármacos, toxinas o insecticidas (Cole, 1994; Rodríguez, 2003).

Dentro de la diversidad de ensayos biológicos encontramos los que se realizan con insectos, los cuales se han usado por décadas para evaluar la actividad de diversas sustancias químicas. Las principales aportaciones del uso de estos ensayos ha sido poder determinar el papel que juegan los químicos naturales e identificar los mecanismos de resistencia, así como encontrar varios agentes de control biológico (Koul, 2005).

Se reporta una variedad de ensayos útiles para la evaluación de compuestos y extractos vegetales sin embargo, antes de implementar una prueba como esta es necesario considerar aspectos como la metodología básica, la interpretación de los datos generados y las limitaciones de cada uno. Otros de los parámetros a considerar durante la implementación de un ensayo biológico son: la estandarización de los sujetos experimentales, edad o el estado de los mismos, la compatibilidad de la metodología a seguir con la sustancias a probar y la implementación tanto de controles positivos como negativos (Cole, 1994). Se recomienda que los ensayos sean baratos y reproducibles, que posean validez estadística, que requieran poca cantidad de compuesto, que sean de corta duración y de amplia aplicación (Cole, 1994; Rodríguez, 2003).

La elección de un ensayo biológico depende principalmente del tipo de actividad que se desee evaluar, debido a que las sustancias a evaluar, extractos, fármacos o compuestos puros, pueden interferir en una amplia gama de procesos, ya sea de manera previa o posterior a la ingesta de las mismas. Cabe señalar que no existe un ensayo capaz de explicar

completamente el mecanismo de acción de un compuesto vegetal por lo que es recomendable el uso conjunto de varios de éstos (Kubo, 1993).

Otro factor a considerar es la elección del insecto modelo: debe tomarse en cuenta la importancia económica de éste, la facilidad para el establecimiento y mantenimiento de la colonia, así como la sensibilidad a los compuestos químicos. Es conveniente el uso de insectos considerados plagas como modelo biológico, debido a que es posible encontrar amplias investigaciones respecto a este tipo de insectos y es necesario considerar que los conocimientos generados con esta investigación repercuten directamente sobre la sociedad (Kubo, 1991).

Ensayos biológicos en la búsqueda de antialimentarios

El diseño básico para la búsqueda de un antialimentario implica el ofrecer al insecto un sustrato con la sustancia química candidato y evaluar la respuesta del insecto, actualmente se cuenta con una gran variedad de ensayos antialimentarios (**Imagen 2**). Respecto a los sustratos es posible usar sustratos artificiales y naturales sin embargo, las diferencias en la respuesta encontradas entre ellos para un mismo compuesto puede variar (Koul, 2005). En el caso de la evaluación es importante que ésta sea simple, de bajo costo e implique poca inversión de tiempo, pero sin perder exactitud en la evaluación de los efectos (Escoubas *et al.*, 1992).

Dentro de los ensayos antialimentarios enfocados a la evaluación con larvas de lepidópteros podemos encontrar: los ensayos con discos foliares y los ensayos de larga duración con dieta artificial.

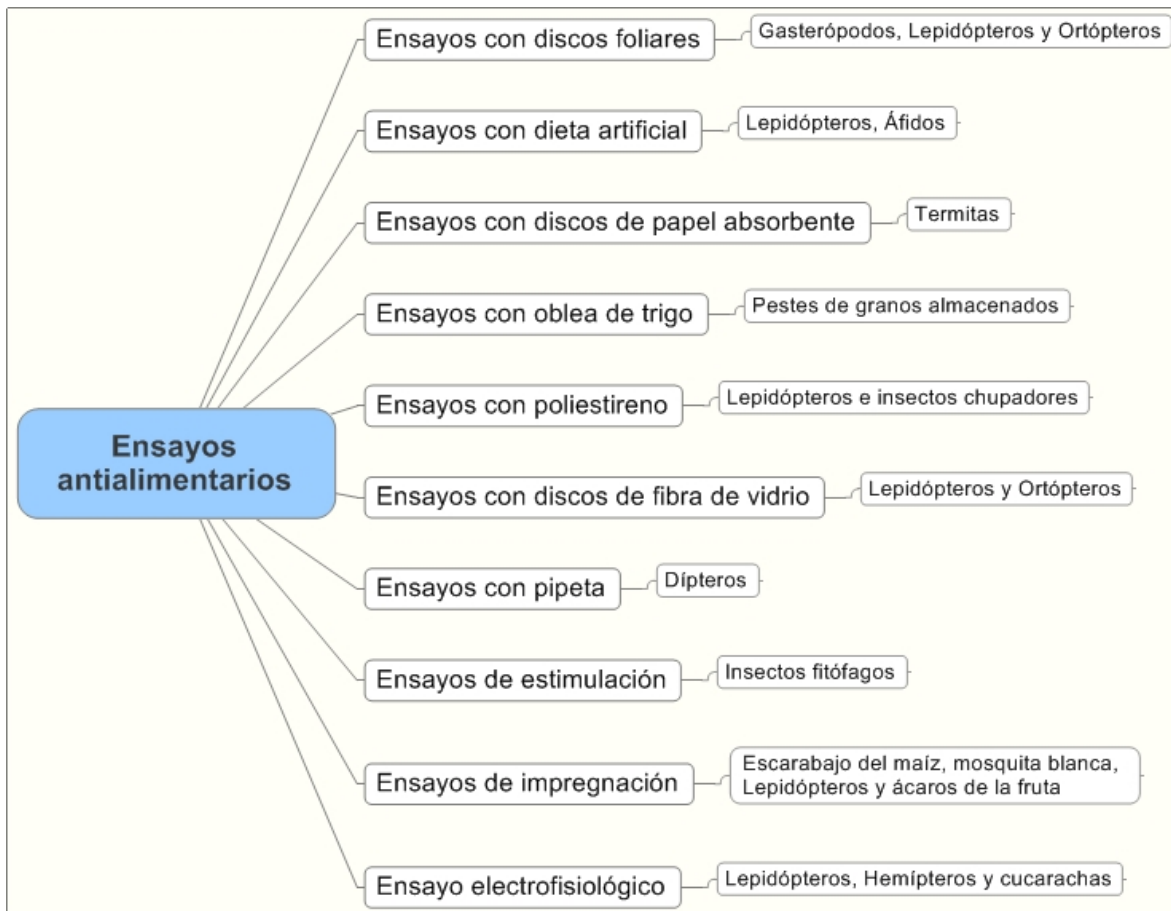


Imagen 2. Diagrama de los diferentes ensayos para evaluar antialimentarios (Modificado de Koul, 2005).

Ensayos con dieta artificial

La evaluación de sustancias con posible actividad sobre la alimentación provee información del efecto de éstas en el desarrollo y sobrevivencia del insecto modelo. En este contexto los ensayos de larga duración proporcionan información sobre cambios en su comportamiento por una exposición prolongada a las sustancias químicas (Koul, 2005). Dentro de éstos encontramos los que emplean dieta artificial, este tipo es empleado para evaluar compuestos en insectos como lepidópteros y coleópteros. El procedimiento general consiste en incorporar el material a probar en la dieta artificial y alimentar con ésta a los insectos (Koul, 2005). Una de las ventajas de este tipo de ensayos es que permiten la evaluación de compuestos de difícil disolución o de materiales sólidos (Cole, 1994).

Los ensayos de larga duración requieren que el modelo biológico cumpla su ciclo de vida alimentándose con la dieta artificial que usualmente consume en condiciones de crianza, con la diferencia de que se ha agregado un compuesto o material vegetal molido. Mediante revisiones periódicas se registra cualquier anomalía física o temporal que se observe en el desarrollo del organismo. Este tipo de experimentos son útiles para demostrar si un compuesto actúa como disruptor del desarrollo (afectando de manera fisiológica el desarrollo normal) o bien demorando el tiempo del mismo (Cole, 1994).

Ensayos con discos foliares.

Los ensayos con discos foliares son muy comunes para trabajar con insectos masticadores y poseen dos modalidades, de selección y no selección. En los primeros, los insectos pueden elegir entre discos control o discos a los que se les incorpora algún tratamiento, mientras que en los segundos, los insectos tienen únicamente discos con tratamiento. Estos ensayos están conformados por una unidad experimental donde se colocan discos foliares bajo un arreglo que depende del tipo de ensayo, de tal manera que el insecto sólo pueda consumir estos discos. Ya sea que pueda elegir entre discos tratados y discos control o bien que sólo se le ofrezcan discos con tratamiento, los tiempos del experimento varían de acuerdo al diseño de cada uno, variando en: número de discos, tipo de discos, número de insectos, tamaño de la unidad experimental, etc. Finalmente los consumos en cada experimento son cuantificados por diferentes medios como diferencias de peso o medición de área. (Cole 1994; Koul, 2005).

En el caso de los ensayos con discos, los parámetros de consumo se pueden manejar mediante porcentajes de área tratada consumida, contra área del control consumida. A este respecto Lidert y colaboradores (1985 en Koul, 2005) establecen parámetros de eficacia mediante el porcentaje de protección que el tratamiento le da al área tratada que no fue consumida, relacionando el porcentaje de protección con la eficacia como antialimentario (**Tabla 2**).

Tabla 2. Asignación de eficacia como antialimentario con base en el porcentaje de protección (Lidert *et al.*, 1985 en Koul, 2005)

Porcentaje de protección durante ensayo	Eficacia como antialimentario
90-100	+++
60-90	++
30-60	+
0-30	-

Sin embargo se considera que un antialimentario provee una protección cuando el porcentaje de inhibición de consumo es de 80-100% (Bernays y Chapman, 1978 en Koul 2005)

Importancia económica y ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*

El género *Spodoptera* (Lepidóptera: Noctuidae) se encuentra distribuido en todas las regiones agrícolas del planeta (Andrews, 1980), *S. frugiperda* es una especie que se encuentra en el continente americano (Sparks, 1979; Willink *et al.*, 1993; Pogue, 2002; Casmuz, *et al.*, 2010). A pesar de no poder entrar en diapausa (Pair *et al.*, 1991), es capaz de infestar regiones frías de Canadá y Estados Unidos por medio de migraciones estacionales, mismas que le permiten escapar de depredadores naturales (Knipling, 1980; Mitchell *et al.*, 1991).

S. frugiperda como insecto plaga ataca principalmente los sembradíos de maíz causando importantes daños en este cultivo, sobre todo cuando ocurre en las etapas tempranas del desarrollo de la planta, pues puede provocar la pérdida de toda la cosecha. Entre los cultivos comerciales que ataca este insecto se encuentran: el maíz, el sorgo, la alfalfa, el algodón, el arroz, el trigo, la caña de azúcar, la soya, las pasturas, el cacahuate, el tomate, el pimiento, la col, el frijol, la cebolla y el girasol (Casmuz *et al.*, 2010). *S. frugiperda* fue elegido como modelo biológico para los ensayos realizados en el presente trabajo por cumplir con las características necesarias para este propósito.

Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*

La oviposición de los huevecillos se da en cúmulos que contienen unos cientos de éstos, eclosionan entre 2-4 días según la temperatura. La hembra deposita los huevecillos en la planta donde las larvas se alimentarán al salir, preferentemente en una planta de maíz. La larva debe completar 6 estadios antes de pasar a la etapa de pupa. Durante los tres primeros la larva es relativamente pequeña por lo que los daños agrícolas no son evidentes, situación que cambiará en los últimos tres estadios en los que la voracidad de la larva es grande (Sparks, 1979).

Durante el 6° estadio, la larva desciende al suelo y en la etapa de pupa se entierra de 1 a 3 pulgadas en el sustrato. El tiempo de duración para la etapa de pupa puede variar de 7 a 37 días dependiendo principalmente de las condiciones del sustrato. Al emerger los adultos, éstos escalan las plantas, este evento suele ocurrir cercano a la media noche. Los adultos no se aparean hasta que han cumplido la segunda noche de vida (Sparks, 1979). En climas tibios y húmedos el ciclo de vida puede cumplirse en 4 semanas, aunque este puede requerir hasta 80 días en climas más fríos (Vickery, 1929 en Sparks, 1979).

El género *Bursera*

La familia Burseraceae (Magnoliopsida) cuenta con más de 700 especies diferentes, distribuidas en 18 géneros, esta familia presenta una distribución principalmente tropical, en selvas caducifolias y húmedas en América, Asia y África (Becerril, 2004, Cortes, 1998). El continente americano cuenta con 8 géneros de dicha familia, de los cuales 6 son exclusivos de América. La familia se compone de tres tribus: Canarie, Protiae y Burseraceae. Burseraceae pertenece al orden de las Sapindales en lo que parece ser un grupo monofilético (Doyle y Hotton, 1991). El género *Bursera* pertenece a la familia Burseraceae, se compone por dos secciones bien diferenciadas, la sección *Bullokia* y la sección *Bursera* (Espinosa, 2007)

Distribución

El género *Bursera* se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Perú, sin embargo cabe destacar que posee un importante endemismo en México (Becerra, 1997). Se conocen 82 especies en nuestro país con una distribución bien definida. (Rzedowski *et al.*, 2005).

La distribución del género *Bursera* en México es amplia y es posible encontrar por lo menos un representante del mismo en 31 de los 32 estados del país (**Imagen 3**), siendo el estado de Tlaxcala el único que no cuenta con un reporte para el género. La distribución del género se concentra en la vertiente del Pacífico en los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Puebla, con lo que es posible reconocer que las regiones costeras entre Jalisco y Oaxaca, adyacentes a la Sierra Madre del Sur, como las regiones geográficas con mayor número de representantes, sin embargo, cabe destacar que la cuenca del río Balsas es el lugar donde se concentran la mayor diversidad y endemismos (Rzedowski *et al.*, 2005).

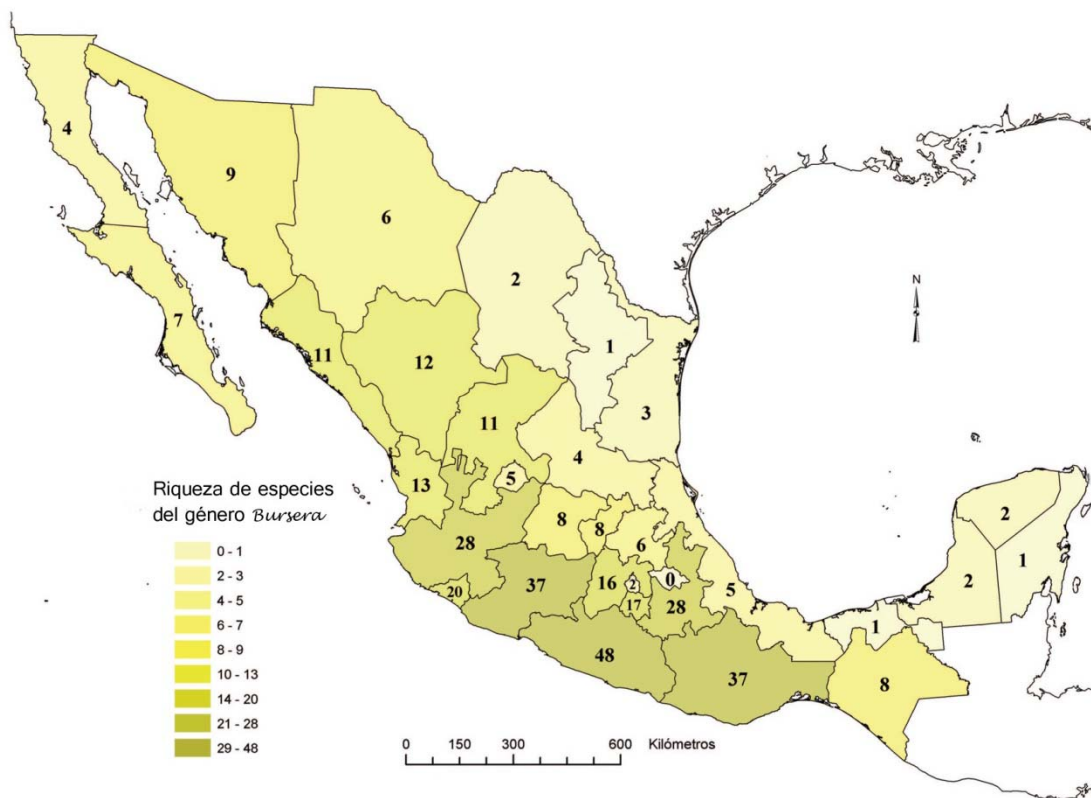


Imagen 3. Mapa de distribución del género *Bursera* en México (Rzedowski *et al.*, 2005).

De las 82 especies del género *Bursera* que encontramos en el país el 40% son endémicas, ya sea restringidas a la localidad tipo o con distribuciones que no abarcan más de dos estados vecinos. Esta situación permite considerar a México como el punto de diversificación del género. El estado de Guerrero tiene la mayor variedad conocida, concentrándose además una gran diversidad en la región específica de la cuenca del río Balsas. Comúnmente las especies de *Bursera* se establecen en suelos someros como los encontrados en laderas de cerros con pendientes importantes (Rzedowski y Kruse, 1979; Toledo-Manzur, 1982).

Taxonomía

Las especies del género *Bursera* son árboles o arbustos caducifolios con alturas que van de los 4 a los 15 m, y se los considera dioicos (Toledo-Manzur, 1982). Los miembros de la familia Burseraceae en general cuentan con canales balsaminíferos y resiníferos en la corteza, además de presentar resinas en casi todos sus órganos (Cuatrecasas, 1957; Swart 1942b). Los estudios químicos han mostrado que esta familia produce principalmente compuestos terpénicos (monoterpenos y sesquiterpenos) (Evans, 2000).

Las hojas se presentan dispuestas en rosetas. Las inflorescencias son pequeñas y cimosas, normalmente se presentan de 3 a 5 pétalos, con coloraciones blanca, amarilla o rojiza. El fruto es drupáceo, con un pericarpo carnoso de colores vistosos (pero dehiscente en la mayoría de los casos). Las semillas (1-5) son casi siempre monoespermicas, con frecuencia cubiertas por un pseudoarilo carnoso y coloreado. Las semillas comúnmente carecen de endospermo (Toledo-Manzur, 1982; Rzedowski y Guevara 1992; Becerril, 2004).

La corteza de los integrantes del género *Bursera* posee coloraciones que varían de gris a rojo e incluso amarillo, y puede ser o no exfoliante, esta característica es la diferencia más conspicua entre las dos secciones que presenta el género, la corteza exfoliante es característica de la sección *Bursera*, mientras que la corteza lisa no exfoliante caracteriza a la sección *Bullokia* (Rzedowski y Kruse, 1979).

La división en dos secciones fue propuesta por McVaugh y Rzedowski (1965); Rzedowski (1968) establece la división de la siguiente manera:

- *Bullockia*: ovario bilocular, fruto bivalvado, flores tetrámeras y pentámeras, catafilos bien desarrollados y corteza no exfoliante.
- *Bursera*: ovario trilocular, fruto trivalvado, flores trímeras, tetrámeras o pentámeras, catafilos ausentes y corteza exfoliante.

Importancia

Las resinas obtenidas de varias especies de la sección *Bullockia* del género Burseraceae, principalmente de *B. copalifera*, son importantes en México desde el punto de vista cultural y medicinal, además de tener importancia económica, ejemplo de estas resinas es el copal. Del mismo modo la familia Burseraceae es origen de resinas con usos similares, como son el incienso y la mirra (Langenheim, 2003)

Dentro de los usos comunes documentados para las especies de *Bursera* encontramos la fabricación de artesanías, conocidas como alebrijes, en el estado de Oaxaca, con la madera de *B. glabrifolia*. El uso de la resina de diferentes especies empleadas como “copal”, además las resinas suelen ser utilizadas como barniz, los troncos son usados como cercas vivas y distintas partes de la planta poseen usos en la medicina tradicional popular (Toledo 1982; Peters *et al.*, 2003). Dentro de la explotación comercial de las especies del género cabe destacar el caso de *B. linaloe*, y el uso de su aceite como materia prima para la elaboración de perfumes. Respecto al uso medicinal la especie *Bursera simaruba* (conocida como palo mulato o indio desnudo), es el representante más usado con 47 usos documentados (Rojas, 2006).

Química y actividad biológica del género

Los trabajos enfocados al estudio químico y actividad biológica de especies del género son diversos, a continuación se resumen los artículos referentes a compuestos químicos reportados y actividad biológica (**Tabla 3**).

Tabla 3. Resumen de los trabajos referentes al aislamiento y evaluación de la actividad biológica de especies del género *Bursera*.

Especie	Parte vegetal trabajada	Extracto trabajado o compuesto aislado	Evaluación biológica	Referencia bibliográfica
<i>B. microphylla</i>	Hojas y ramas jóvenes	α -felandreno, β -felandreno, ácido tetrahidrocumínico.	No evaluada.	Bradley y Haagen-Smith, 1951.
<i>B. graveolens</i>	Corteza	2,3-seco-triterpeno, (+)-limoneno, (+)- α -terpineol y (+)-carvona.	No evaluada.	Crowley, 1964.
<i>B. microphylla</i>		Desoxipodofilotoxina y β -sitosterol.	No evaluada.	Bianchi y colaboradores, 1968.
<i>B. microphylla</i>		Burserano, desoxipodofilotoxina y β -sitosterol.	Inhibición tumoral, carcinoma epidermoide humano.	Cole y colaboradores, 1969.
<i>B. schlechtendalii</i>		(-)- <i>trans</i> -2-(3'',4'',5''-trimetoxi-bencil)-3-(3',4'-metilenedioxibencil) butirolactona y (-)- <i>trans</i> -2-(3'',4''-dimetoxibencil)-3-(3',4'-metilenedioxibencil) butirolactona.	Inhibición tumoral, adenocarcinoma de faringe nasal.	McDoniel y colaboradores, 1972
<i>B. fagaroides</i>		β -peltatina y 5'-demetoxi- β -peltatina.	Inhibición tumoral.	Bianchi y colaboradores, 1969 (en Arora 1975).
<i>B. arida</i>		Benulina, β sitosterol, narnigenina y ácido betulónico.	No evaluada.	Ionescu y colaboradores, 1977.
<i>B. morelensis</i>		desoxipodofilotoxina, así como un nuevo lignano 5'-desmetoxidesoxipodofilotoxina.	Inhibición tumoral.	Jolad y colaboradores, 1977a.
<i>B. klugii</i>	Subfracción etanólica extracto etanólico de hojas.	Sapelinas A y B	Actividad citotóxica.	Jolad y colaboradores, 1977b.

Cont. Tabla 3.

Especie	Parte vegetal trabajada	Extracto trabajado o compuesto aislado	Evaluación biológica	Referencia bibliográfica
<i>B. simaruba</i>	Corteza, hoja y fruto.	Extractos metanólico y de diclorometano.	Actividad citotóxica.	Cepleanu y colaboradores, 1994.
<i>B. delpechiana</i>	Resina.	3 β -acetoxi-11a, 12a-epoxiurs-28, 13-ólida y 3 β -acetoxi-12 β -hidroxiurs-28, 13-ólida	No evaluada.	Syamasundar y Mallavarapu (1995)
<i>B. perfolias</i>	Corteza.	Deoxipodofilotoxina, éter metílico de β -peltatina, éter metílico de pico- β -peltatina, y éter metílico de dehidro β -peltatina y nemerosina.	Actividad citotóxica.	Wickramaratne y colaboradores, 1995.
<i>B. simaruba</i>	Resina.	Lup-20(29)-en-3 β , 23-diol, α -amirina, β -amirina, lupeol, epilupeol y epiglutinol.		Peraza-Sánchez y colaboradores, 1995.
<i>B. simaruba</i>	Corteza	hexanico, cloroformico y metanólico	Antibacterial.	Camporese y colaboradores, 2003.
<i>B. schlectendalii</i>	Hojas y corteza	dihidroanhidropodorizol	actividad antiviral (<i>Herpes simplex</i> tipo 1)	Ayres y Loike, 1990 (en Pérez, 2003)
<i>B. graveolens</i>	Madera	(-)-dihidro- α -agarofurano, (-)-5,11-epoxi-4 α , 5 β , 10 α -eudesm-1-eno, (-)-4 α -hidroxidihidroagarofurano, (-)-3 β , 4 β -oxidoagarofurano y (-)-10-epi- γ -eudesmol. De estos compuestos es la primera vez que se identifica el (-)-5,11-epoxi-4 α ,5 β ,10 α -eudesm-1-eno	No evaluada.	Yakuwa y colaboradores, 2004.
<i>B. graveolens</i>	Corteza	Ácido 3-oxotirucalla-8,24-dien-21-oico (ácido β -elemónico), ácido 3 α -hidroxitirucalla-8,24-dien-21-oico (ácido α -elemónico) y ácido 3 α -hidroxitirucalla-7,24-dien-21-oico	Antimicrobianas (<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>)	Robles y colaboradores, 2005.

Cont. Tabla 3.

Especie	Parte vegetal trabajada	Extracto trabajado o compuesto aislado	Evaluación biológica	Referencia bibliográfica
<i>B. graveolens</i>	Extracto de madera con éter dietílico	1-acetil-4-isopropenil-1-ciclopentano y 2-metil-5-isopropenil-1-ciclopenten-1-carboxaldeido, 6, 10-epoxi-7(14)-isodaucano y 10-hidroxi- 6,10-epoxi-7(14)-isodaucano	No evaluada.	Yukawa y colaboradores, 2005.
<i>B. tonkinensis</i>	Raiz	burselignano, bursafenilpropano, burseneolignano (+)-isolariciresinol, 5-methoxy-(+)-isolariciresinol, 4'-demetildesoxipodofilotoxina, 4'-demethildesoxipodofilotoxina 4-O-β-D-glucósido, 1-(4'-hidroxi-3'-metoxifenil)-2-[4''-(3-hidroxipropil)-2'',6''-dimetoxifenoxi] propano-1,3-diol, alcohol dihidrodehidrodiconiferilico, alcohol 5-metoxi- <i>trans</i> -dihidrodehidrodiconiferilico, scopoletina y b-daucosterol	citotoxicidad	Jutiviboonsuk y colaboradores, 2005.
<i>B. suntui</i>	Tallo	(1S,3Z,7E,11S,12S)-(+)-verticilla-3,7-dien-12,20-diol y 20-acetato de (1S,3Z,7E,11S,12S)-(+)-verticilla-3,7-dien-12,20-diol, (1S,3E,7E,11R)-(+)-verticilla-3,7,12(18)-trieno, (1R,3E,7E,11R,12Z)-(+)-verticilla-3,7,12-trieno, (1R,7E,11Z)-(-)-verticilla-4(20),7,11-trieno y (1S,3E,7E,11S,12S)-(+)-verticilla-3,7-dien-12-ol (6).	No evaluada	Hernández-Hernández y colaboradores, 2005.
<i>B. kerberi</i>	Tallo	(1S,3E,7E,11S,12R)-(+)-verticilla-3,7-dien-12-ol, (1S,3E,7E,11R)-(+)-verticilla-3,7,12(18)-trieno, (1R,3E,7E,11R,12Z)-(+)-verticilla-3,7,12-trieno y (1R,7E,11Z)-(-)-verticilla-4(20),7,11-trieno.	No evaluada	Hernández-Hernández y colaboradores, 2005.

Cont. Tabla 4.

Espece	Parte vegetal trabajada	Extracto trabajado o compuesto aislado	Evaluación biológica	Referencia bibliográfica
<i>B. simaruba</i>	Fruto y ramas	Aceites esenciales	Bactericida	Junor y colaboradores, 2007.
<i>B. lunanii</i>	Fruto	Aceites esenciales	Bactericida	Junor y colaboradores, 2007.
<i>B. fagaroides</i>	Corteza	extractos acuosos	Citotoxicidad	Reynoso-Orozco y colaboradores, 2008.
<i>B. simaruba</i>	Hoja	3-metilen-7,11,15-trimetilhexadec-1-eno (neofitadieno), ergost-5-en-3 β -ol, 24 <i>S</i> -stigmast-5,22 <i>E</i> -dien-3 β -ol, 24 <i>S</i> -stigmast-5-en-3 β -ol y α -amirina	No evaluada	Carretero, 2008.
<i>B. copallifera</i>		extractos acetónicos	Nematicida	(López-Aroche y colaboradores, 2008.
<i>B. graveolens.</i>	Madera	(+)-Mintlactona e (-)-isomintlactona		Iwabuchi y colaboradores, 1997 (en Gao <i>et al.</i> , 2009).
<i>B. copallifera</i> , <i>B. exselsa</i> , <i>B. mirandae</i> , <i>B. ruticola</i> y <i>B. fagaroides</i> var. <i>Purpusii</i>		α -Thujeno, α -Pino, Camfeno, Sabineno, β -Pino, β -Mirceno, α -Felandreno, <i>p</i> -Cimeno, Limoneno, β -Felandreno, β -Ocimeno, α -Copaeno, β -Cariofilleno, α -Humuleno, Germacreno D y Biciclogermacreno.		Noge y Becerra, 2009.
<i>B. simaruba</i>		yateina, β -peltatina-O- β -D-glucopiranosido, hinokinina y bursehernina, tres compuestos naturales llamados 3,4-dimetoxifenil-1-O- β -D-(6-sulpho)-glucopiranosido, 3,4,5-trimetoxifenil 1-O- β -D-(6-sulfo)-glucopiranosido y 3,4-diidroxifeniletanol-1-O- β -D-(6-sulfo)-glucopiranosido		Maldini, <i>et al.</i> , 2009

Cont. Tabla 5.

Especie	Parte vegetal trabajada	Extracto trabajado o compuesto aislado	Evaluación biológica	Referencia bibliográfica
<i>B. serrata</i>	Corteza y tallo	Extractos de éter de petróleo y diclorometano	Actividad antimicrobiana y citotóxica	Rahman y colaboradores, 2009.
<i>B. grandifolia</i>	Hoja	Fenacetina	No evaluada	Velázquez y colaboradores, 2009.
<i>B. copallifera</i> <i>B. grandifolia</i>		Extractos hexánico y acetónico	Actividad antibacterial	Salinas y colaboradores, 2009.
<i>B. kerberi</i>	Tallo	(-)-(1R,3E,7E,11R,12R)-Verticilla-3,7-dien-12-ol, (+)-(1S,3Z,7E,11S,12S)-Verticilla-3,7-dieno-12,20-diol, 20-acetato de (+)-(1S,3Z,7E,11S,12S)-Verticilla-3,7-dieno-12,20-diol, (+)-(1S,3E,7E,11R)-Verticilla-3,7,12(18)-trieno, (+)-(1R,3E,7E,11R,12Z)-Verticilla-3,7,12-trieno y (-)-(1R,7E,11Z)-Verticilla-4(20),7,11-trieno		Wang y colaboradores, 2009.
<i>B. serrata</i>	Hoja	Extractos de éter de petróleo y diclorometano	Inhibición líneas celulares de cáncer.	George, 2010.
<i>B. aromatica</i>	Hoja y corteza.	Nonano, α -copeno, β -cariofileno, δ -cadineno, viridiflorol, β -pineno y limoneno		Junor y colaboradores, 2010.
<i>B. tomentosa</i>	hojas, flores y corteza	extractos crudos	Citotóxicidad	Robles y colaboradores, 2010.
<i>B. tomentosa</i>	aceite esencial de frutos	<i>cis</i> -ocimeno, <i>n</i> -nonano y germacreno	Actividad antibacterial	Moreno y colaboradores, 2010

El género *Bursera* y su actividad frente a insectos

Respecto a las investigaciones referentes, específicamente a la actividad de especies del género *Bursera* frente a insectos es importante destacar las siguientes:

De la Cruz y Dirzo (1987) realizaron un estudio de herbivoría en campo; entre otros resultados se destacó que la media de consumo en individuos de *B. simaruba* fue significativamente baja (0.16 %) comparada con la media de herbivoría de otras especies en el mismo ecosistema.

Howard (1990) presentó datos respecto a la defoliación diferencial de 2 especies *Spondias mombin* y *Bursera simaruba* destacando que esta última presenta taninos condensados probablemente con función repelente.

Becerra (1994) aporta datos que indican que la resina de *Bursera schlechtendalli* produce efectos desfavorables en el crecimiento y desarrollo de larvas de crisomélidos.

Becerra (1997) realizó una investigación a nivel molecular sobre las relaciones evolutivas que presentan los géneros *Blepharida* y *Bursera* por medio de filogenias moleculares, y mediante la reconstrucción de los perfiles químicos. El análisis de los datos demostró una fuerte correspondencia entre los patrones químicos de ambas especies indicando que la química de las plantas ha jugado un papel importante en la evolución de los herbívoros hospederos.

Becerra y Lawrence (1999) emplearon filogenias moleculares para la identificación de preferencias de hospedero usadas por escarabajos del género *Blepharida* y las especies de *Bursera* a las que se asocian por sobrelapamientos de tiempos evolutivos, así como por la temporalidad y la ubicación geográfica de los mismos.

Meshram (2000) realizó una evaluación del potencial insecticida y antialimentario de los extractos de hojas de 14 especies vegetales, usando como modelo al insecto defoliador *Plecoptera reflexa*. Entre las especies que demostraron tener cierta actividad antialimentaria e insecticida se encuentra *Bursera paniculata*.

Un estudio sobre la defensa de ciertas especies de *Bursera* y la contradefensa por parte de los escarabajos *Blepharida* asociados a éstas, demostró que los insectos secuestraban los terpenos presentes en las plantas de las que se alimentan. Un análisis de los componentes de *Blepharida schlechtendalii* y *Bursera schlechtendalii* evidenció que los extractos de acetato de etilo de estos organismos presentan los siguientes compuestos: nonano, α -pineno, sabineno, β -mirceno, limoneno y β -felandreno. El respectivo análisis del extracto de acetato de etilo de *Bursera biflora* y *Blepharida flavocostata* reveló que las hojas de la planta presentan α -pineno, 4 sesquiterpenos sin identificar y ácido palmítico. El ácido palmítico se encontró también en larvas y heces del escarabajo, por otro lado el sesquiterpeno sin identificar se presentó tanto en hojas de la planta como en heces del insecto (Evans *et al.*, 2000).

Evans y colaboradores (2000) apuntan que *Bursera schlechtendalii* secreta una resina como respuesta al daño mecánico. El análisis de la fracción volátil de dicha resina reveló que esta posee monoterpenos como limoneno, β -felandreno y sabineno. Una especie de escarabajo, *Blepharida sp*, consume esta planta sin causar problemas; parece aprovechar la presencia de estos compuestos en la resina de la planta que consume para su propia protección pues la utiliza en regurgitaciones y heces para hacer una masa que coloca sobre sí mismo. La presencia de los mismos terpenos tanto en las heces como en regurgitaciones sugiere que este comportamiento es para protegerse de sus depredadores.

Ciertas especies del género *Bursera* tienen la particularidad de contar con un sistema para desalentar a los insectos fitófagos, el cual involucra el uso de resinas contenidas a presión; cuando la planta recibe un daño libera un chorro de resina hasta 1.5 metros de distancia (Ward, 2008), mismo que Becerra (2003) define como "pistola de agua". La repulsión es resultado del efecto mecánico, como de la composición química de la resina. Las especies con el sistema "pistola de agua" tienden a presentar una mezcla de volátiles de uno o dos monoterpenos, mientras que las que no lo poseen presentan una mezcla compuesta principalmente por sesquiterpenos y diterpenos. Aparentemente la relación entre la defensa química y mecánica de las *Burseras* con el sistema "pistola de agua" derivó en que algunas especies tengan un poderoso disparo, pero una baja complejidad química.

Becerra (2003) ejemplifica la coevolución de las plantas y sus herbívoros mediante los ejemplos de interacción observados entre el género *Bursera* y los escarabajos del género *Blepharida*. Se establecieron filogenias calibradas en el tiempo para especies de ambos géneros mediante el análisis de espaciadores de transcripción internos (ITS) y espaciadores de transcripción externos (ETS) del ADN ribosomal. Lo anterior permitió observar una correlación temporal entre los sistemas de defensa y contradefensa de ambos géneros.

En un estudio sobre la actividad de plantas empleadas en la medicina tradicional brasileña se evaluó la actividad de los extractos etanólicos de la corteza de *Bursera leptophloeos* frente a *Aedes aegypti*, así como en adultos y huevos de *Biomphalaria glabrata* y *Artemia salina*, obteniendo porcentajes de mortandad de 10, 0, 9 y 57 % respectivamente (Luna *et al.*, 2005).

Zuñiga (2005) evaluó la actividad antialimentaria de los aceites esenciales y los extractos de 9 especies del género *Bursera*, identificando a las especies *B. lancifolia*, *B. aleoxylon* y *B. aptera* como las que presentaron el efecto más significativo sobre el crecimiento de *Spodoptera frugiperda* durante los ensayos con dieta artificial. En cuanto a los ensayos de selección-no selección, se observó una actividad importante de todas las especies, siendo las especies *B. aleoxylon* y *B. aptera* las más activas.

Becerra (2007) analizó los terpenos y los alcanos volátiles de 57 especies del género por medio de cromatografía de gases acoplada a espectroscopía de masas. Determinó las diferencias y obtuvo una proporción de diferencia química entre las especies agrupadas por comunidades. De este modo estableció que las especies de comunidades donde se presentan escarabajos monófagos altamente especializados presentan mayores diferencias químicas entre ellas. Así mismo, se relacionó la diversidad química observada en las comunidades de *Burseras* estudiadas, con las poblaciones de los escarabajos *Blepharida* presentes en cada comunidad, y se determinó que las poblaciones de los escarabajos influyen directamente sobre la composición química interespecífica por medio de las presiones de selección que ejercen sobre los componentes de una comunidad.

Becerra y colaboradores (2009) llevaron a cabo el análisis de los compuestos volátiles de 70 especies del género *Bursera*; realizaron una filogenia molecular a fin de evaluar la

diversidad y complejidad química de estas especies. Se observó que la diversidad de especies aumenta más rápido, evolutivamente hablando, que la diversidad química de las mismas, lo que significaría que las especies son químicamente similares a pesar de las diferencias taxonómicas que presenten.

Salgado López (2009) evaluó extractos crudos, fracciones, subfracciones y compuestos puros extraídos de semillas de *Bursera grandifolia* frente a *Spodoptera frugiperda*, demostrando actividad antialimentaria de los mismos; entre las subfracciones más activas se encuentran los ácidos grasos de cadena larga, esteroides, alcoholes y aldehídos, así como un compuesto puro, el β -sitosterol.

El extracto metanólico de corteza de *Bursera simaruba* demostró tener actividad acaricida durante un ensayo en el que se evaluó la actividad acaricida de 15 plantas nativas de Yucatán contra la garrapata bovina *Rhipicephalus microplus*, mediante la prueba de inmersión larval. El extracto produjo una mortalidad del 99 % durante el ensayo (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010).

Aldana y colaboradores (2010) encontraron que los extractos de 2 especies del género *Bursera*, *B. copallifera* y *B. grandifolia* presentan actividad insecticida frente a *S. frugiperda* en ensayos de larga duración con dieta artificial. Se destaca que el extracto acetónico de *B. copallifera* puede ser considerado como antialimentario pues este consiguió una reducción de 50% de peso larval a los 14 días de ensayo.

Islam y Becerra (2011) realizaron un análisis por cromatografía de gases de los aceites esenciales de tres especies de *Bursera*, *B. penicillata*, *B. vejar-vazquezii* y *B. trifoliata*. La comparación entre los perfiles obtenidos demostró que *B. vejar-vazquezii* y *B. trifoliata* presentan mayores similitudes entre sí, que entre *B. penicillata*. Destaca el hecho de la baja proporción de compuestos volátiles en *B. vejar-vazquezii*. La composición de estas especies varía de manera importante, sin embargo, coinciden en la presencia de monoterpenos y sesquiterpenos, mientras que el contenido de diterpenos y triterpenos es bajo. Éstos resultados son contrastantes con los análisis previos respecto al contenido de terpenos en las especies del género.

Metodología

Recolecta de Material

El material vegetal de las especies fue recolectado durante el mes de septiembre de 2009 en los estados de Puebla y Guerrero. Se recolectaron tallos y hojas de varias especies de *Bursera* y se prepararon ejemplares de herbario de cada una. La identificación taxonómica de dichas especies fue llevada a cabo por el Biol. José Luis Contreras Jiménez (Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).

Las especies de *Bursera* empleadas en el presente trabajo fueron seleccionadas en función de la cantidad de material recolectado y el peso seco de las mismas. Las especies fueron: *B. copallifera*, *B. lacifolia* y *B. vejar-vazquezii*.

Sitios de recolecta:

Los tallos y hojas de *Bursera copallifera* (Sessé y Moc. ex. DC.) Bullock se recolectaron a 14 Km SO de Tlapa por la carretera a Chilpancingo, 1 Km al E de Axoxuca, ladera Este de un cerro a la orilla de la carretera, en el municipio de Tlapa de Comonfort, Guerrero. El sitio posee las siguientes coordenadas geográficas: Lat.: 17° 32'30.7" N; Long.: 98° 38'04.2" W; Alt.: 1315 msnm. La vegetación predominante de la zona es bosque tropical caducifolio en la ladera este, sobre suelos rojos conglomerados de la formación Balsas.

El material vegetal de *Bursera lancifolia* (Schlecht.) Eng se recolectó en Puerto del Gato, a 9 Km al W de Tehuitzingo por la carretera Izucar de Matamoros-Huajuapán en el municipio de Tehuitzingo, Puebla. Este sitio posee las siguientes coordenadas geográficas: Lat.: 18° 23' 29.8" N; Long.: 98° 19' 51.8" W; Alt.: 1167 msnm. La vegetación predominante de la zona es bosque tropical caducifolio en la ladera sur sobre suelos de conglomerados rojos.

Bursera vejar-vazquezii Miranda, se recolectó en una zona ubicada a 4 Km por la desviación a Acaxtlahuacán a partir de la carretera Tecomatlan-Tlapa en el municipio de

Acaxtlahuacan de Albino Zertuche, Puebla. El sitio posee las siguientes coordenadas geográficas: Lat.: 18° 00' 32.4" N; Long.: 98° 28' 30.6" W; Alt.: 1562 msnm. La vegetación predominante de la zona es bosque tropical caducifolio alterado, en ladera sur y este sobre suelo negro derivado de rocas calizas.

Los ejemplares de herbario se depositaron en el Herbario de la Facultad de Ciencias, UNAM, bajo los siguientes números de depósito: *B. copallifera*-N° 130611, *B. lancifolia*-130610 y *B. vejar-vazquezii*-130609.

Descripción de las especies:

Bursera copallifera (Sessé y Moc. ex. DC.) Bullock.

Árbol o arbusto de 1.5-7 m de altura, corteza gris no exfoliante, catáfilos triangulares y agudos o acuminados de 2-5 mm de largo con 7-14 pares de foliolos, haz esparcidamente hirto, envés veloso; los laterales elípticos, oblongos, o lanceolados, de 1.5-3 cm de largo, característicamente rugoso reticulados, ápice agudo a redondeado y margen aserrado-crenado. Las inflorescencias son panículas de 1-8 cm de largo con flores aglomeradas; flores tetrámeras, sépalos libres, de 1.5-3 mm de largo, lanceolados y agudos; pétalos oblanceolados-espátulados, cuculados, de 2.2-3 mm de largo, amarillos o amarillo-anaranjados, ápice mucronado. Drupas bivalvadas, elipsoidales a esféricas, de 7-10 mm de largo y 4-6 mm de ancho, glabras; hueso esférico a elipsoidal, de 5.2-7 mm de largo, con el pseudo-arilo cubriéndolo en su totalidad, o bien dejando una pequeña región desnuda y oscura en el ápice (Toledo Manzur, 1982).

Bursera lancifolia (Schlecht.) Eng.

Árbol de 3.5-8 metros de alto y cerca de 25-30 cm de diámetro a la altura del pecho (DAP); resina abundante, con aroma a trementina; corteza exfoliante generalmente rojiza, a veces anaranjada, rara vez beige. Hojas de 9-20.5 cm de largo y 9-15.5 cm de ancho, con 5-9 foliolos, raquis sin alas, glabras o levemente glandulosas; foliolos laterales sésiles, oblongo-lanceolados, rara vez obovados, de 4-8.5 cm de largo y 0.8-2.1 cm de ancho, base aguda a obtusa, ápice acuminado, a veces redondeado o retuso, margen finamente aserrado.

Inflorescencias racimosas, glabras, las masculinas de 20-35 mm de largo, las femeninas menores, brácteas caedizas de menos de 1 mm de largo, pedicelos de 1-2 mm de largo. Las flores masculinas 5(4)-meras, las femeninas 3(4)-meras; lóbulos del cáliz triangulares, agudos de 0.6-2 mm de largo; pétalos ascendentes, oblongo triangulares, de 2.5-3.6 mm de largo y 1 mm de ancho, cuculados, amarillentos con tintes rojizos en el centro, glandulosos; ovario de las flores femeninas ovoide. Drupas trivalvadas ovoideo-triangulares, de 8-12 mm de largo y 5-8 mm de ancho agudas a ligeramente apiculadas, región apical encorvada lateralmente, pseudoarilo amarillo cubriendo la totalidad de la semilla (Toledo Manzur, 1982).

Bursera vejar-vazquezii Miranda.

Árbol de 4-12 m de alto, corteza lisa no exfoliante. Catáfilos triangulares a oblongos, hasta de 5.5 mm de largo; hojas de 26-41 cm de largo y 17-25.4 cm de ancho, con 6-7 pares de foliolos, corta y densamente blanquecino-pubescentes en todas sus partes, peciolos de 6-9 cm de largo, raquis residual a angostamente alado, alas hasta de 2 mm de ancho y enteras; foliolos laterales largamente lanceolados, sésiles o subsésiles, de 5-13.5 cm de largo y 2-3.8 cm de ancho, gradualmente atenuados hacia el ápice que es calloso y apiculado, margen sub-entero a crenado-dentado con excepción de la parte apical. Inflorescencias paniculadas de 5-9 cm de largo, pubescentes. Flores tetrámeras; sépalos lineales a linear triangulares de 3-5 mm de largo, pilosos; pétalos oblongo-lanceolados, mucronados, de 3-3.4 mm de largo y 1 mm o menos de ancho, amarillos con una franja roja en el centro, pilosos. Drupas bivalvadas, elipsoidales, de 12-15 mm de largo y 7-10 mm de ancho, ápice cortamente apiculado, glabras o cortamente pubescentes; hueso elipsoidal de 8-10 mm de largo y 5-6 mm de ancho, pseudoarilo rojo o amarillo cubriéndolo casi totalmente, a excepción del ápice (Toledo Manzur, 1982).

Secado y molienda del material

El material recolectado se separó en hojas y tallos. Una vez separado se secó en cámaras de ambiente controlado a una temperatura constante de 40°C. Una vez seco el material vegetal correspondiente a hojas, se pulverizó en un molino eléctrico (Retsch ®, SM 2000).

Ensayos de larga duración con dieta artificial empleando hoja seca

Con el fin de evaluar el efecto del consumo de hoja seca de las tres especies, *B. copallifera*, *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*, sobre el desarrollo de *S. frugiperda*, se llevaron a cabo ensayos de alimentación con hoja seca incorporado en la dieta artificial del insecto.

Los ensayos de larga duración se realizaron siguiendo la metodología descrita por Cole (1994):

Se administran concentraciones conocidas de la sustancia a probar (compuestos puros, extractos e incluso hoja seca) en la dieta artificial de un modelo biológico, esperando que éste la consuma durante todo su ciclo vital y se registran las alteraciones que se presenten durante su desarrollo.

Los organismos bajo tratamiento, así como los que se encuentren bajo condiciones control, son monitoreados, realizando un registro de las diferencias observadas en el desarrollo de las larvas: talla, peso, tiempo de pupación, malformaciones, viabilidad y mortandad, a fin realizar comparaciones entre cada tratamiento respecto al control.

Inicialmente se implementaron ensayos de larga duración con la hoja seca y molida de las tres especies de *Bursera*. Del insecto modelo utilizado en estos ensayos, el lepidóptero *Spodoptera frugiperda*, se utilizaron específicamente larvas neonatas. Se realizó el monitoreo cada 7 días registrando talla, peso y mortandad, así como cualquier alteración ya sea temporal o morfológica, al finalizar el ensayo se obtuvieron: el porcentaje de pupación y de emergencia de adultos, así como la proporción de sexo por ensayo. Las diferencias en talla y peso se analizaron mediante un ANOVA y una prueba Tukey para cada tratamiento (SigmaStat ® 3.5).

Obtención de Extractos

Las hojas secas y molidas de cada una de las tres especies se pesaron y fueron sometidas a una maceración en frío con disolventes de polaridad creciente (hexano, acetato de etilo y metanol). El tiempo de maceración con cada disolvente fue de 3 días, con 3 repeticiones

por disolvente. El disolvente se evaporó por medio de una destilación a presión reducida mediante el uso de un rotavapor (Büchi ® R-205) para obtener los extractos secos. Se realizó el cálculo de rendimiento para cada extracto de las tres especies.

Posteriormente se realizó una evaluación de éstos mediante ensayos de larga duración con dieta artificial, ensayos de corta duración con discos foliares, ensayos *in vitro* de inhibición de acetilcolinesterasa y una comparación por cromatografía en capa fina.

Análisis de los extractos

Ensayos de larga duración con dieta artificial suministrando extractos

Siguiendo la metodología general descrita previamente, se incorporó una cantidad de extracto equivalente a 1000 ppm, a los componentes de la dieta artificial durante la preparación de la misma. La mezcla homogeneizada se dejó reposar a temperatura ambiente permitiendo la evaporación del disolvente utilizado para la preparación de los extractos (el disolvente varió en función de cada extracto). Se pesaron y se colocaron 5 gramos de dieta en un recipiente individual con dos larvas neonatas. La concentración de extracto usada fue de 1000 ppm en cada tratamiento, se realizaron 50 réplicas por extracto y 50 réplicas de control. El control se preparó de manera idéntica al control, pero incorporando únicamente disolvente.

En este ensayo se registraron los mismos parámetros que en el ensayo con hojas secas, talla, peso, mortalidad, porcentaje de pupación y de emergencia, y proporción de sexos.

Ensayos de corta duración con discos foliares

Se llevaron a cabo dos variantes de este tipo de ensayo, de selección y de no selección, de acuerdo a la metodología general descrita por Kubo (1993):

Se maneja como unidad experimental una caja de Petri con una cama de agar de aproximadamente 5 mm de espesor, sobre la que se realizan perforaciones equidistantes con un sacabocados, como se observa en la **Imagen 4**, dentro de dichas perforaciones se colocan los discos foliares, que han sido cortados con un sacabocados de menor tamaño.

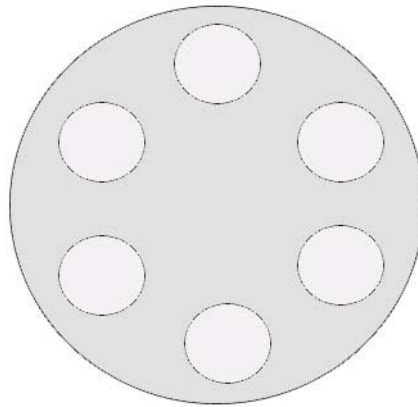


Imagen 4. Diagrama de las perforaciones realizadas en la cama de agar, para los ensayos de corta duración.

En cada caja de Petri se introducen dos larvas del insecto modelo elegido, que previamente han sido sometidas a un periodo de ayuno a fin de asegurar su alimentación durante el ensayo. El ensayo se suspende al observar un consumo cercano al 50% de material vegetal ofrecido bajo condiciones control.

En la variante de selección existe la posibilidad de que el insecto elija su alimento entre discos tratados o discos control, y en la de no selección únicamente se presentan discos tratados.

Finalizado el ensayo se cuantifica el consumo de los discos por parte de las larvas y se realiza una comparación entre los consumos de los tratamientos y el control para cada variante, a fin de contrastar los consumos.

Durante los ensayos realizados se impregnaron discos foliares de lechuga con los extractos a una concentración de 1000 ppm (referida al peso fresco promedio de los discos), el arreglo de los discos dependió de la variante de ensayo. Los discos control correspondieron

a discos de lechuga impregnados únicamente con el disolvente empleado para la aplicación de los extractos. Cada experimento se detuvo al observar 50% de consumo en discos control o bien transcurridas 8 h. En éste caso el consumo de los discos se cuantificó como porcentaje de consumo, por medio de un medidor de área foliar Areameter AM300 (ADC Bioscientific Ltd ®).

Se utilizaron 2 larvas de *Spodoptera frugiperda* en tercer estadio que habían mudado recientemente. Éstas fueron mantenidas previamente en ayuno durante 3 h. Los ensayos se llevaron a cabo en cámaras de ambiente controlado a una temperatura de 26 ± 2 °C, una humedad relativa de 60% y un fotoperiodo luz/obscuridad de 16/8 h. Para cada tipo de ensayo se incluyó un control positivo consistente en un extracto de hojas de *Azadirachta indica* a 1000 ppm, dicho control positivo se realizó de manera simultánea y siguiendo la misma metodología empleada para los tratamientos experimentales. Este control positivo se manejó como un tratamiento extra, contando con sus respectivos controles.

Ensayo de selección

En este tipo de ensayo se permitió la elección de alimento por parte de las larvas, pues cada caja de Petri contenía igual número de discos foliares tratados como control, presentados en un arreglo alternado (**Imagen 5**). Al término del ensayo el área consumida por cada tipo de disco, tratamientos y controles, se registraron de manera independiente, para poder observar el consumo de los discos tratados como control.

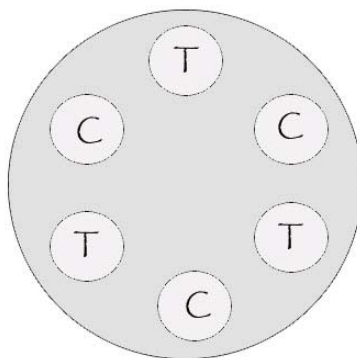


Imagen 5. Arreglo de discos foliares tratados (T) y control (C) presentes en ensayo de selección.

Los resultados obtenidos de este ensayo se utilizaron para calcular el índice de disuasión (ID) de cada extracto, mediante la **Fórmula 1** (Alkofahi et al., 1989 en Escoubas *et al.*, 1993).

$$ID = (\%T / \%T + \%C) \times 100$$

Fórmula 1. Índice de disuasión, donde C = valor obtenido del consumo de discos control y T = valor obtenido de la ingestión de discos tratados

Los parámetros para la evaluación de dicho índice son:

- ID < 20 disuasión de la alimentación
- ID > 20 inactivo
- ID ≥ 50 similar a control
- ID > 80 estimulante de la alimentación

Ensayo de no selección

Para los ensayos se eliminó la posibilidad de elección de alimento por parte de la larva al presentar, únicamente, discos tratados (**Imagen 6**). Al terminar el ensayo se cuantificó el área total consumida de los discos tratados. Los discos control se colocaron en una caja de Petri independiente bajo las mismas condiciones.

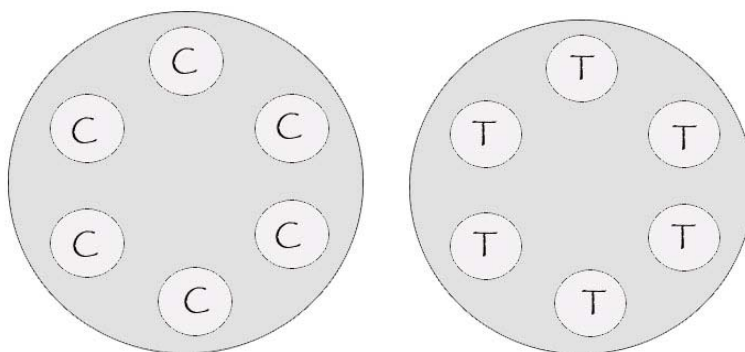


Imagen 6. Arreglo de los discos foliares presentes en las cajas correspondiente al ensayo de no selección, tanto para discos control (C) como discos de tratamiento (T)

Obtenidos los datos de consumo para ambas condiciones de los ensayos, estos se utilizaron para calcular el índice antiapetitivo (IA) para cada extracto, mediante la **Fórmula 2** (Bentley, et al., 1984).

$$IA = [1 - (T/C)] \times 100$$

Fórmula 2. Índice antiapetitivo, donde C = valor obtenido del consumo de discos control y T = valor obtenido de la ingestión de discos tratados

De acuerdo a este índice los parámetros de evaluación son:

IA = 100, disuasión total de la alimentación.

IA > 25, activos.

IA < 25, inactivos.

IA < 0, fagoestimulantes.

Evaluación de la actividad de acetilcolinesterasa

La relación directa entre la actividad de la acetilcolinesterasa en el sistema nervioso de los insectos y la sensibilidad a insecticidas ha sido previamente documentada (Fournier et al., 1992). Por esta razón la inhibición de la acetilcolinesterasa se utiliza como herramienta para la determinación de los efectos de insecticidas organofosfatados (Day et al., 1990). Además de los insecticidas organofosfatados, existen otras moléculas que provocan efectos adversos sobre la actividad de la acetilcolinesterasa; algunas de estas moléculas son diversos tipos de terpenos presentes en las plantas (Miyazawa et al., 1998).

La acumulación de acetilcolina por la inactivación de la acetilcolinesterasa provoca la estimulación continua de las conexiones colinérgicas en el sistema nervioso periférico y central lo que desemboca en parálisis y posterior muerte del insecto. Se han identificado distintos monoterpenos que son inhibidores competitivos de la enzima, entre estos podemos mencionar el citral, el linalol y la pulegona (Ryan *et al.*, 1988).

Se llevo a cabo una evaluación *in vitro* de la inhibición de acetilcolinesterasa de *S. frugiperda* por parte de los extractos de las especies de *Bursera* estudiadas, para ello se empleó la siguiente metodología:

Para llevar a cabo los ensayos se preparó un extracto crudo de acetilcolinesterasa por medio de la homogenización de la cabeza, el tórax y el abdomen de tres adultos de *S. frugiperda*. Las partes mencionadas se colocaron en un homogeneizador Dounce y se añadieron 4 mL de buffer de fosfatos 0.1 M pH 8. El homogenizado fue filtrado mediante una malla fina de nylon y se conservó en hielo. Cada extracto de acetilcolinesterasa fue preparado el mismo día que se realizó cada ensayo.

Se utilizó un protocolo experimental modificado del método de Ellman (1961) para medir la actividad de la acetilcolinesterasa. El medio del ensayo contenía buffer de fosfatos 0.1M, Triton X100 al 0.5%, yoduro de acetilcolina 0.5 mM, ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoico) (DTNB) 0.3mM y extracto crudo de acetilcolina todo en un volumen final de 250 μ L.

Se da inicio al ensayo mediante la adición de yoduro de acetiltiocolina al medio que contenía el resto de los reactivos. La reacción se sigue a 412 nm durante 5 min en un lector de microplacas, Spectramax 190 (Molecular Devices). El volumen de extracto crudo de acetilcolinesterasa se ajusta para obtener una actividad de 0.05 unidades de absorbancia por minuto.

El extracto vegetal a evaluar es disuelto en etanol diluido con buffer de fosfatos pH 8 y Triton X100, la mezcla se añade al medio del ensayo a una concentración que va de los 2 a los 1000 µg/mL.

La concentración inhibitoria 50 (IC₅₀), concentración de extracto con la que se obtiene el 50 % de inhibición de la actividad enzimática, se calculó mediante el método gráfico a partir de la ecuación general de la recta (**Fórmula 3**) y su forma con X despejada (**Fórmula 4**).

$$y = mx + b$$

Fórmula 3. Ecuación general de la recta.

Despejando a x de la ecuación obtenemos:

$$x = (y - b) / m$$

Fórmula 4. Ecuación general de la recta con x despejada.

Donde:

y = valor de las ordenada

m = pendiente de la recta

x = valor de las abscisas

b = ordenada al origen

Análisis cromatográfico de los extractos

Cromatografía en capa fina (CCF)

Con el fin de realizar una comparación entre los extractos de cada una de las especies se llevó a cabo un análisis por cromatografía en capa fina utilizando reveladores específicos para flavonoides y terpenos.

Para el análisis cromatográfico se utilizó el método general descrito a continuación:

- Los extractos fueron disueltos a una concentración de 5mg/mL con el disolvente apropiado para cada caso.
- Se aplicó un volumen de 10 µL en un aplicador automático (TLC sampler, CAMAG).
- Todos los extractos se aplicaron en placas con base gel de sílice G-25 con indicador fluorescente para luz UV de 254 nm.
- Se eligió el mejor sistema de elución y las placas se desarrollaron en una cámara cromatográfica
- Se observaron en una cámara de luz ultravioleta, tanto en onda larga (365 nm) como en onda corta (254 nm).

Una vez obtenidas las fases móviles que permitieron la mejor separación de los extractos, se utilizaron reveladores específicos para dos grupos de metabolitos secundarios:

Flavonoides: revelador de productos naturales RPN (2-aminoetil difenilborato, Sigma-Aldrich)

Terpenos: revelador de anisaldehído (p-anisaldehído, Sigma-Aldrich)

Las cromatogramas obtenidos fueron analizados mediante un software de densitometría planar, VideoScan (Wincats).

Los tres extractos hexánicos fueron desarrollados juntos en placas cromatográficas mediante una fase móvil de hexano: acetato de etilo (3:1; v:v), con la que se logró la mejor separación de los compuestos presentes. Los tres extractos de acetato de etilo fueron desarrollados de forma simultánea mediante una fase móvil de hexano: acetato de etilo: metanol (1:6:1; v:v). Para la separación cromatográfica de los tres extractos metanólicos se empleó la siguiente fase móvil: hexano: acetato de etilo: metanol (1:12:1; v:v), misma que permitió la separación de los compuesto presentes en el extracto.

Para los extractos de acetato de etilo y metanólicos se realizó un análisis semicuantitativo con estándares de flavonoides, con el objetivo de esclarecer la naturaleza de éstos. Ambas placas fueron desarrolladas con la siguiente fase móvil: tolueno: acetona: ácido fórmico (6:2:2; v/v). Este análisis se llevó a cabo debido a que en la literatura se ha documentado la presencia de flavonoides en el género.

Resultados

Rendimiento de los extractos

Los resultados acerca del rendimiento de los extractos se presentan en la **Tabla 4**, en la cual es posible observar que el mayor rendimiento se presentó en los extractos metanólicos, seguidos de los extracto de acetato de etilo, excepto para *B. lancifolia*. Los menores rendimientos los presentaron los extractos hexánicos de *B. copallifera* y *B. vejar-vazquezii*.

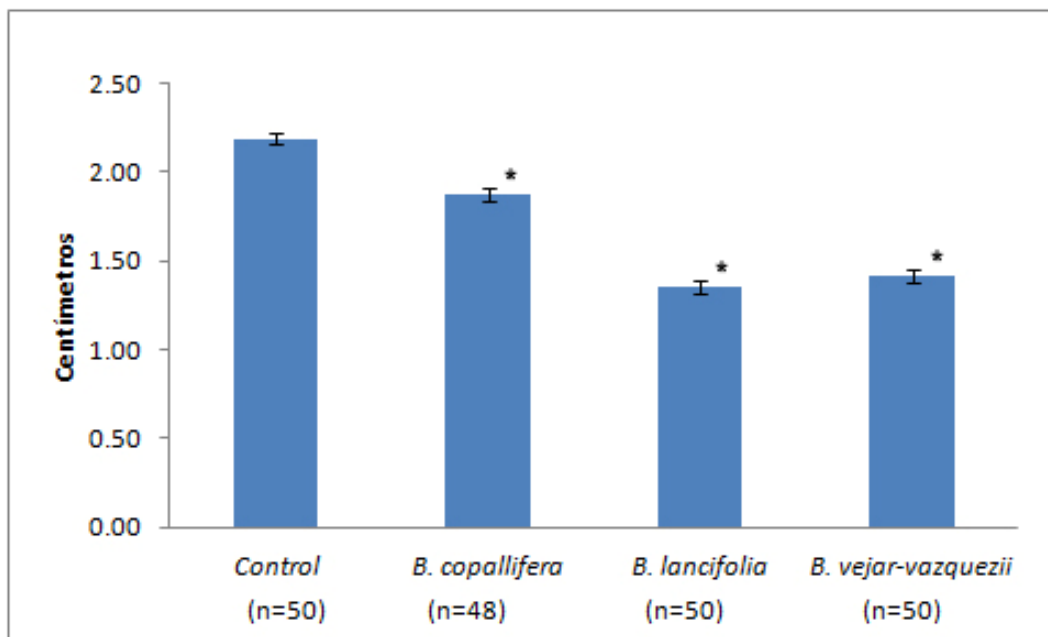
Tabla 4. Rendimiento de los tres extractos realizados para las tres especies.

Especie	Disolvente	Rendimiento %
<i>Bursera copallifera</i> (319 g)	Hexano	1.53
	Acetato de etilo	1.07
	Metanol	15.17
<i>Bursera lancifolia</i> (420 g)	Hexano	4.28
	Acetato de etilo	2.35
	Metanol	9.6
<i>Bursera vejar-vazquezii</i> (421 g)	Hexano	1.6
	Acetato de etilo	2.47
	Metanol	12.63

Ensayos de larga duración con hoja seca incorporada en la dieta

Los resultados referentes al suministro de hoja de las tres especies de *Bursera* en la dieta artificial de *S. frugiperda* muestran los valores de talla y peso correspondientes a la lectura realizada a los 7 días de ensayo, únicamente se presenta la lectura de la primer semana ya que a partir de la segunda, la población control había dejado los estadios larvales.

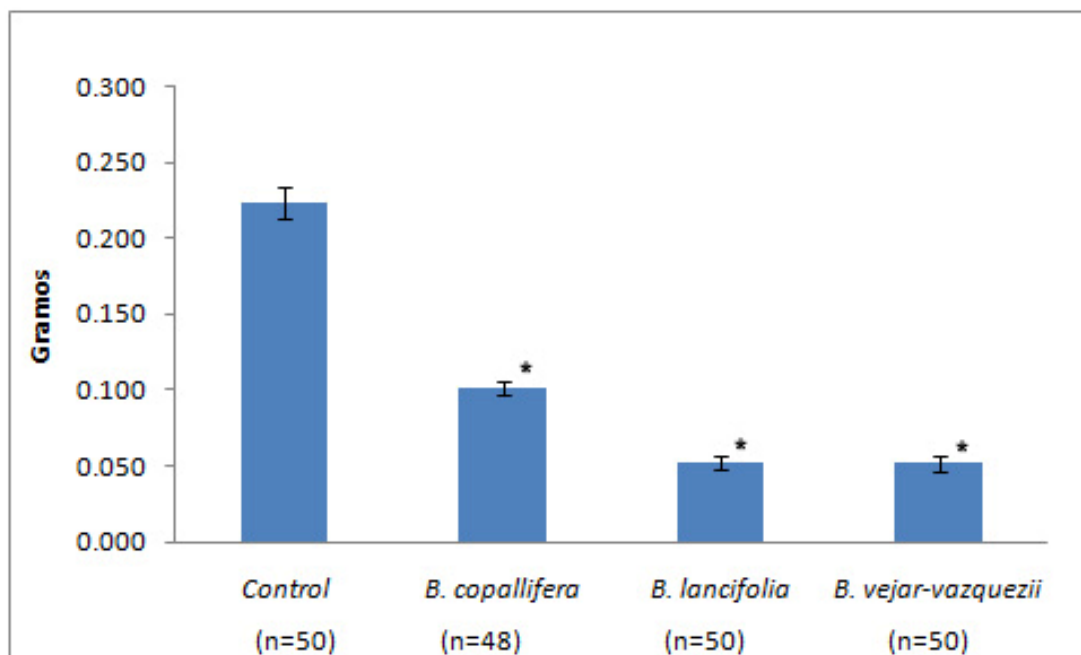
En la **Gráfica 1** se puede apreciar que los tratamientos con hojas secas integradas a la dieta del insecto causaron una disminución en la talla. La especie que causa la menor talla es *B. lancifolia*, seguida por la especie *B. vejar-vazquezii*, éstos tratamientos provocaron una disminución cercana a un centímetro. El tratamiento con la especie *B. copallifera* causó la menor disminución de talla, cerca de medio centímetro. Las diferencias observadas fueron estadísticamente significativas según el análisis de varianza de dos vías bajo la prueba de comparación de Tukey con un valor de significancia de $P < 0.05$.



Gráfica 1. Efecto en la talla de *S. frugiperda* por el suministro de hoja seca de las tres especies de *Bursera* (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$).

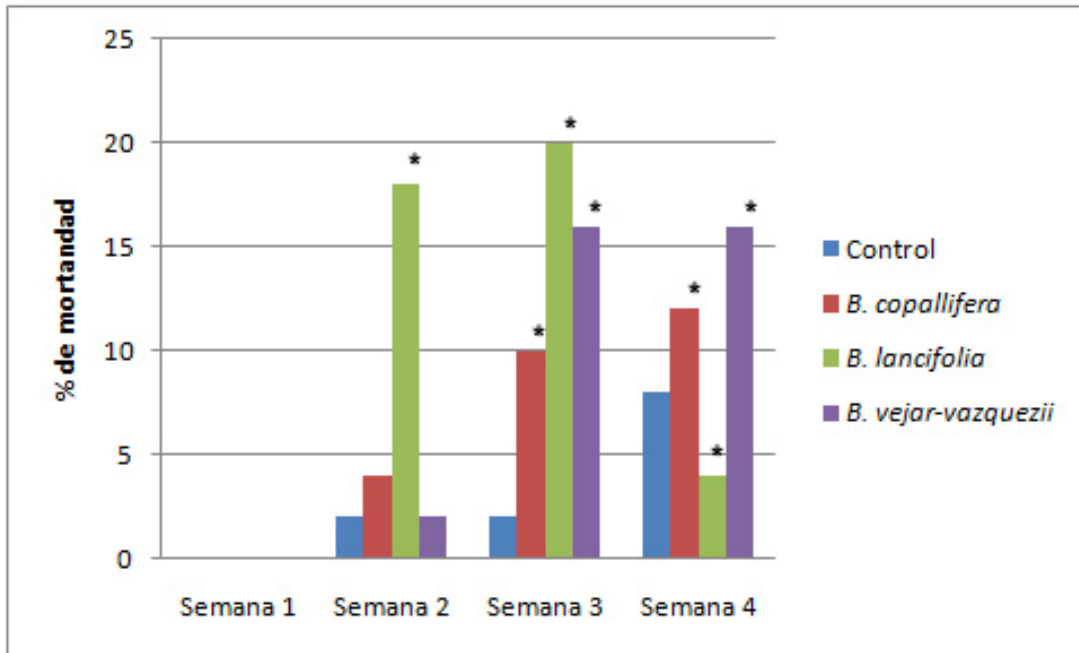
Mediante los datos obtenidos del registro de peso para los tratamientos realizados con hojas secas, se apreció la misma tendencia observada para el registro de talla, siendo el

experimento de suministro de hoja de la especie *B. lancifolia* el que presentó la mayor reducción de peso, seguido por el de hoja de *B. vejar-vazquezii* y finalmente el de *B. copallifera*, como podemos apreciar en la **Gráfica 2**. Es notorio que en estos datos las diferencias significativas registradas son más importantes que las observadas mediante los datos de talla, las reducciones en peso en los tratamientos con la mayor reducción son cercanas a un 60% respecto al control.



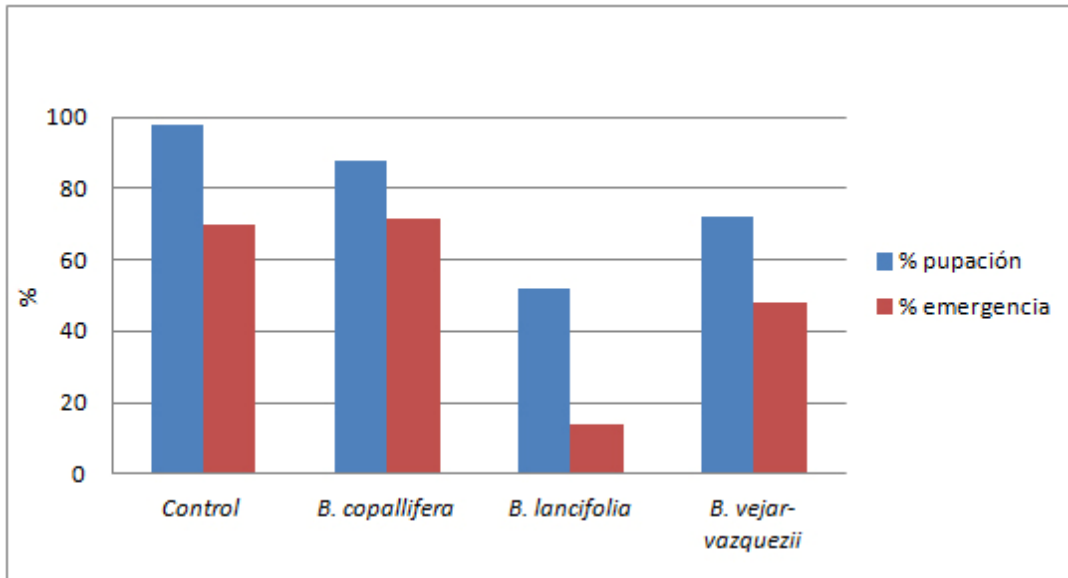
Gráfica 2. Efecto en el peso de *S. frugiperda* por los tratamientos con hoja seca de las tres especies de *Bursaria* (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$).

La mortandad se evaluó durante las 4 semanas de duración del ensayo, durante el cual se observó que el tratamiento de *B. copallifera* mostró una tendencia al aumento de la mortandad a través del tiempo, cercana al 12% al final del ensayo. El régimen alimenticio con dieta mezclada con *B. lancifolia* presentó los valores más altos de mortandad, principalmente durante la segunda y tercer semana alcanzando valores superiores al 17%. Finalmente el ensayo con *B. vejar-vazquezii* presentó una baja mortandad en la segunda semana y una alta mortandad durante las últimas dos semanas de ensayo, presentando valores superiores al 15% en éstas semanas **Gráfica 3**.



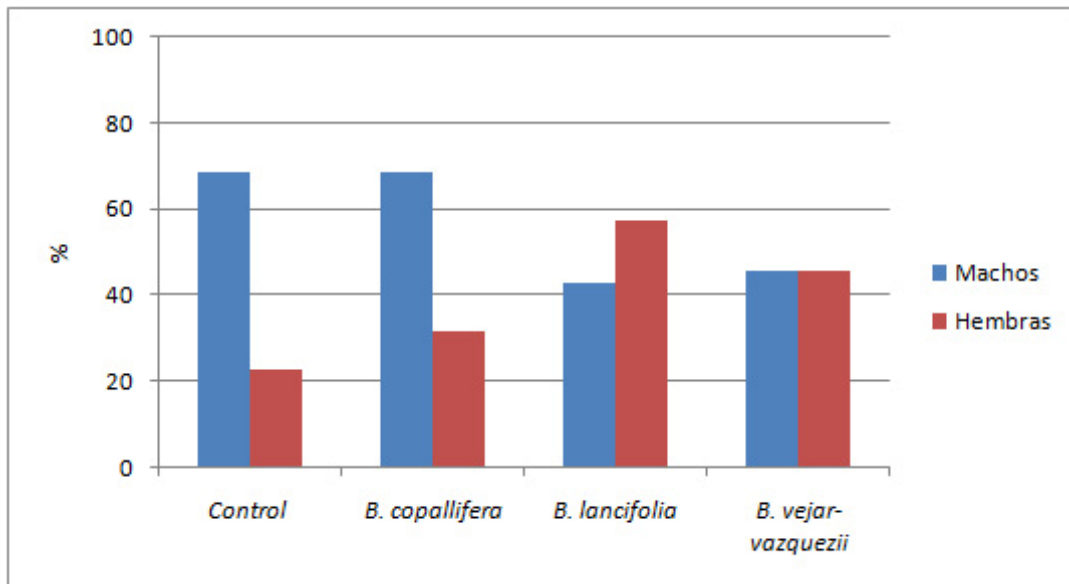
Gráfica 3. Mortandad semanal para los tratamientos con hoja seca de las tres especies de *Bursera*. (*) diferencias significativas bajo prueba exacta de Fisher a 0.05.

Los registros de los parámetros de pupación y emergencia de adultos observados para los tratamientos, **Gráfica 4**, nuevamente mostraron que la mayor reducción respecto al control se dio en el tratamiento con hoja de *B. lancifolia*, con valores de pupación del 50% y una emergencia cercana al 17%. En estos parámetros el ensayo con hoja de *B. vejar-vazquezii*, a diferencia de lo observado en los parámetros de talla y peso presentó un menor impacto que el tratamiento con *B. lancifolia*. Finalmente el suplemento de dieta con *B. copallifera* presentó valores muy cercanos a los registrados para el lote control, presentando incluso un mayor valor en la emergencia.



Gráfica 4. Porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia de adultos para los tratamientos con hoja seca de las tres especies de *Bursera*.

Por último, los valores correspondientes a la proporción de sexos registrados para cada tratamiento son presentados en la **Gráfica 5**. Se observó que la proporción de sexos comparada con el control no se vio alterada de manera importante con el tratamiento de *B. copallifera*. De manera contrastante el experimento con *B. lancifolia* presentó una inversión en la proporción de sexos; este tratamiento produjo un mayor número de hembras. El régimen de alimentación con dieta mezclada con hoja seca de *B. vejar-vazquezii* también presentó una alteración en la proporción de sexos, al presentar el mismo porcentaje de machos y de hembras.



Gráfica 5. Proporción de sexos para los tratamientos con hoja seca de las tres especies de *Bursera*.

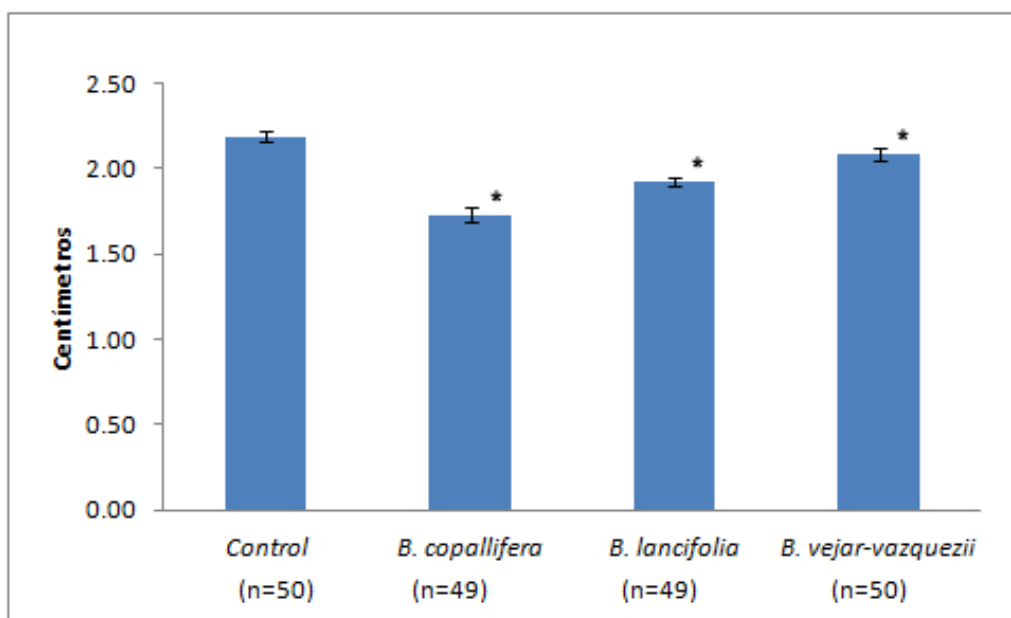
En los resultados obtenidos en los ensayos con hojas secas podemos observar dos comportamientos diferentes: mientras que las especies *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii* presentaron una importante reducción de talla y peso, así como una alta mortandad; la especie *B. copallifera* produjo una reducción menor en talla y peso, pero en la mortandad se observa un aumento semanal de la misma. La variación de los resultados en estos ensayos pudo deberse a las diferencias morfológicas y químicas que existen entre las especies evaluadas (Toledo Manzur, 1982).

Los resultados acerca de los parámetros de pupación y emergencia son afectados significativamente comparados con el control. Dichos resultados podrían ser consecuencia del efecto producido por el consumo de hojas secas durante las etapas larvales previas a la pupación sin embargo, la respuesta a nivel fisiológico debe ser estudiada mediante otro tipo de ensayos enfocados a ver los efectos a dicho nivel.

Ensayos de larga duración con extracto incorporado en la dieta

Tratamiento con extractos hexánicos

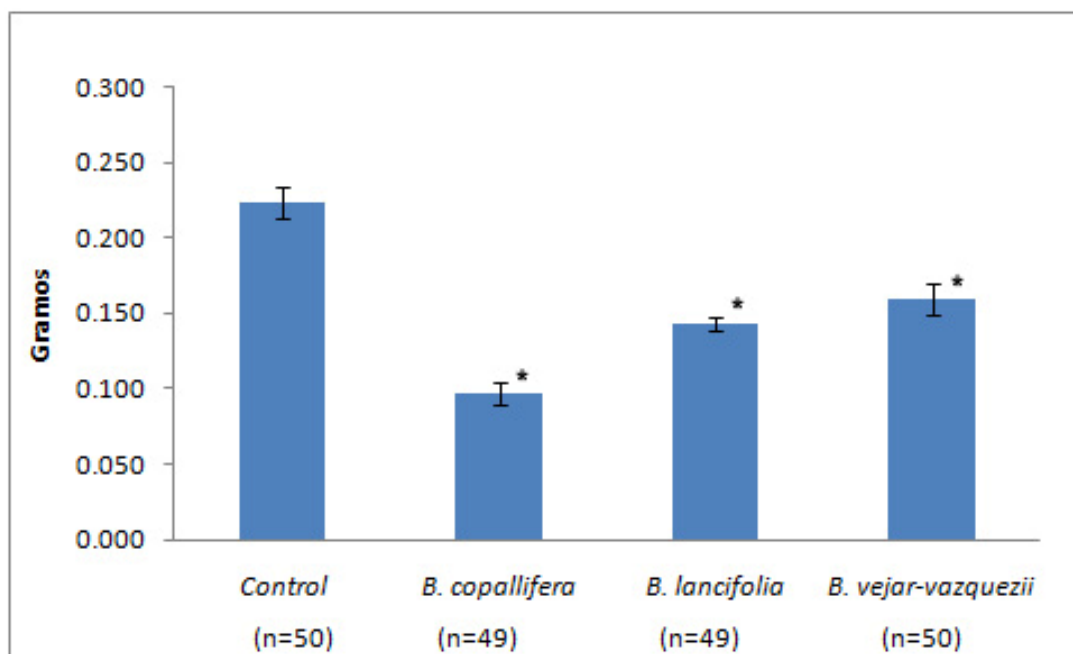
Los resultados obtenidos mediante los ensayos de larga duración con extractos hexánicos incorporados a la dieta fueron contrastantes con el registro de talla de los tratamientos con hoja seca. En el ensayo con extractos hexánicos la mayor reducción de talla se obtuvo con el extracto de *B. copallifera* (0.5 cm), seguido de las especie *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*, siendo esta última especie la que presenta los valores más cercanos a los del lote control, (**Gráfica 6**).



Gráfica 6. Efecto sobre la talla de *S. frugiperda* por el suministro de extracto hexánico de las tres especies de *Bursera* (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$).

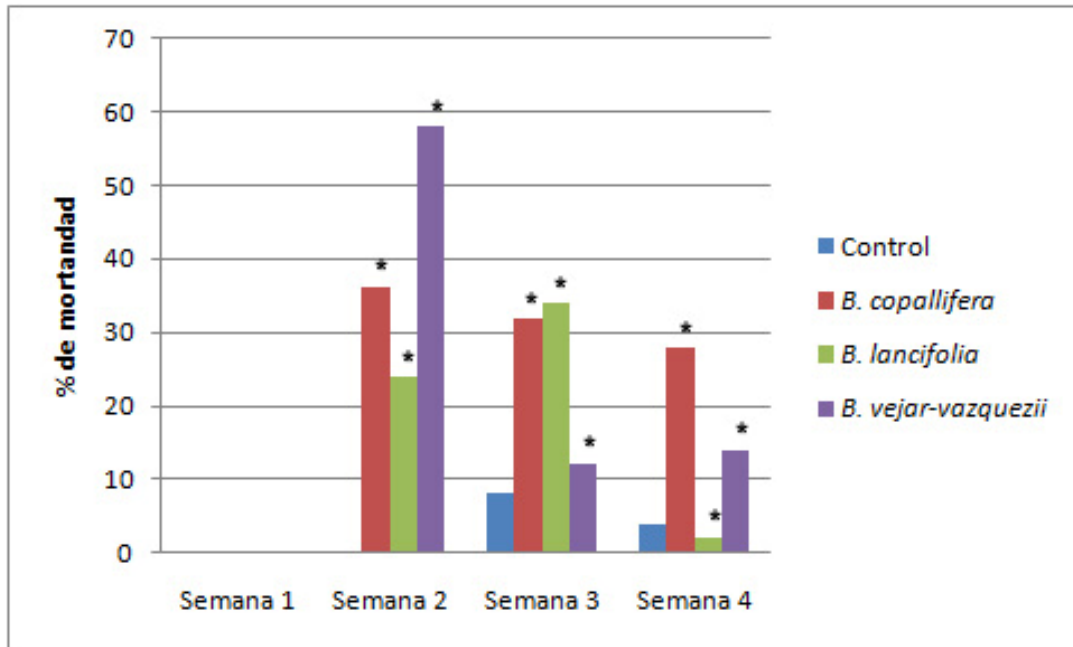
Respecto a los datos obtenidos mediante el registro de peso se apreció nuevamente la tendencia presentada en el registro de talla, siendo la especie *B. copallifera* la que presentó la mayor reducción de peso en comparación con el lote control (0.12 g), lo cual equivale a una reducción mayor al 50% del valor obtenido en el lote control. Los tratamientos con las especies *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*, presentaron valores de reducción muy cercanos entre sí, alrededor de los 0.150 g lo cual indica una reducción de cerca de 0.075 g respecto

al lote control. La reducción fue significativa con los extractos de las tres especies (**Gráfica 7**).



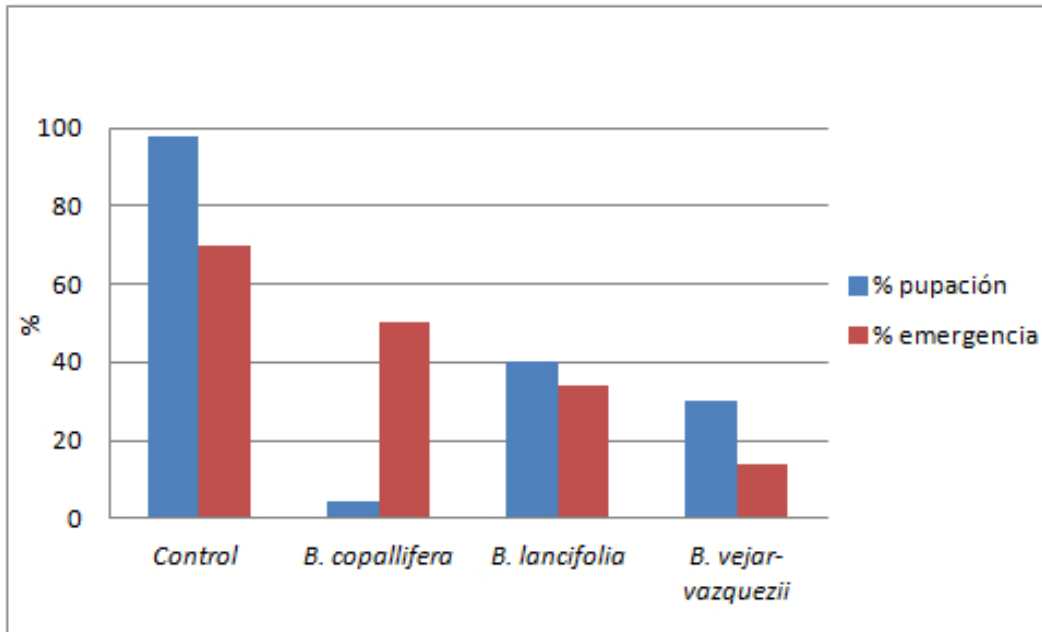
Gráfica 7. Efecto sobre el peso de *S. frugiperda* por el suministro de extracto hexánico de las tres especies de *Bursera* (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Los efectos en la mortandad de *S. frugiperda* presentados por los tratamientos con extractos hexánicos mostraron que el extracto hexánico de *B. copallifera* presentó un valor de mortandad superior al 25 %, pero éste se mantiene de manera constante durante las tres semanas finales del ensayo. El suplemento en la dieta del extracto hexánico de *B. lancifolia* presentó valores de mortandad superiores al 20 % y 30 % en la segunda y tercer semana de ensayo respectivamente. Finalmente, cabe destacar que el tratamiento de *B. vejar-vazuquezii* causó la mayor mortandad de larvas de *S. frugiperda* (superior al 50 %) durante la segunda semana de ensayo; aunque este efecto disminuye de manera significativa al final del experimento, el valor alcanzado durante la segunda semana resultó muy superior a los presentados por los otros tratamientos, (**Gráfica 8**).



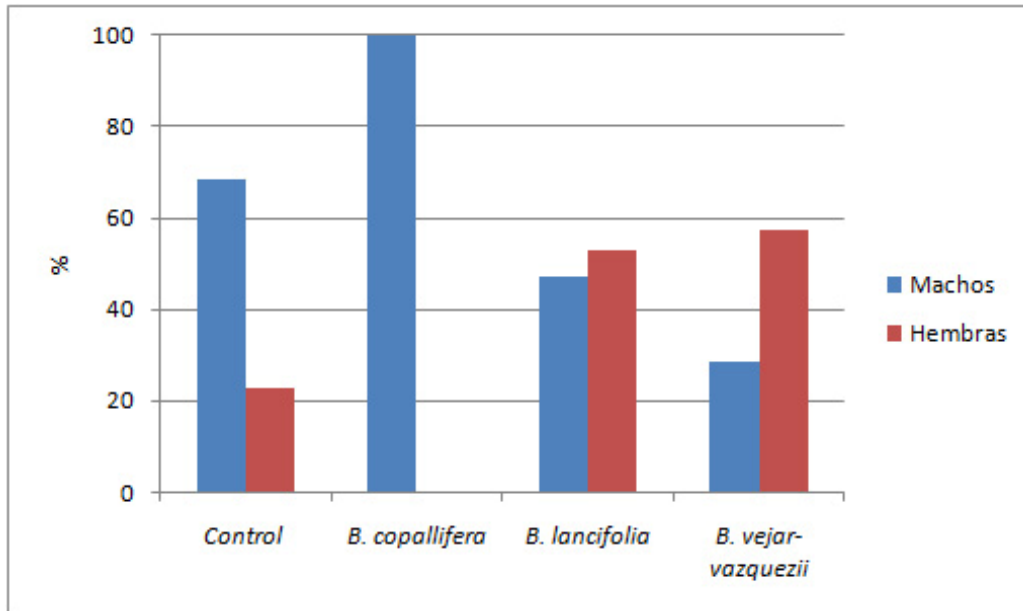
Gráfica 8. Mortandad semanal para los tratamientos con extracto hexánico de las tres especies de *Bursera*. (*) diferencias significativas bajo prueba exacta de Fisher a 0.05.

En relación al parámetro de pupación y emergencia, nuevamente es el tratamiento con extracto de *B. copallifera* el que causó las alteraciones más importantes, siendo ésta una pupación por debajo del 10% y de estos organismos en pupa solo emergió la mitad. La pupación para *B. lancifolia* es del 40%, mientras que la emergencia es incluso menor al 40%. Por último el extracto de *B. vejar-vazquezii* presenta una pupación superior al 30%, pero la emergencia de los organismos en pupa es cercana al 10% (**Gráfica 9**).



Gráfica 9. Porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia de adultos para los tratamientos con extracto hexánico de las tres especies de *Bursera*

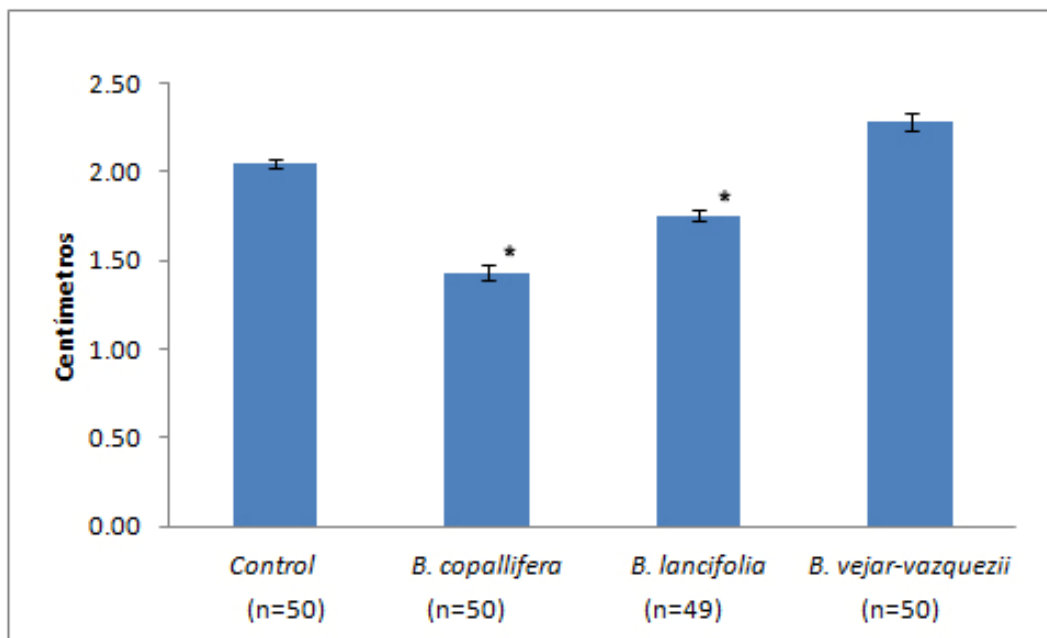
La proporción de sexos observada para los tratamientos con extracto hexánico de la especies de *Bursera* (**Gráfica 10**) presentaron alteraciones muy notorias al ser completamente diferentes a la observada en el lote control. La proporción más discordante se observó cuando se administró el extracto de *B. copallifera*, pues únicamente se presentaron organismos del sexo masculino. La proporción de sexos de adultos de *S. frugiperda* obtenida durante el experimento correspondiente al suministro de extracto de *B. lancifolia* mostró valores muy cercanos entre machos y hembras, mientras que el tratamiento con *B. vejar-vazquezii* presentó una inversión completa respecto a la proporción de sexos observada en el lote control.



Gráfica 10. Proporción de sexos para los tratamientos con extracto hexánico de las tres especies de *Bursera*.

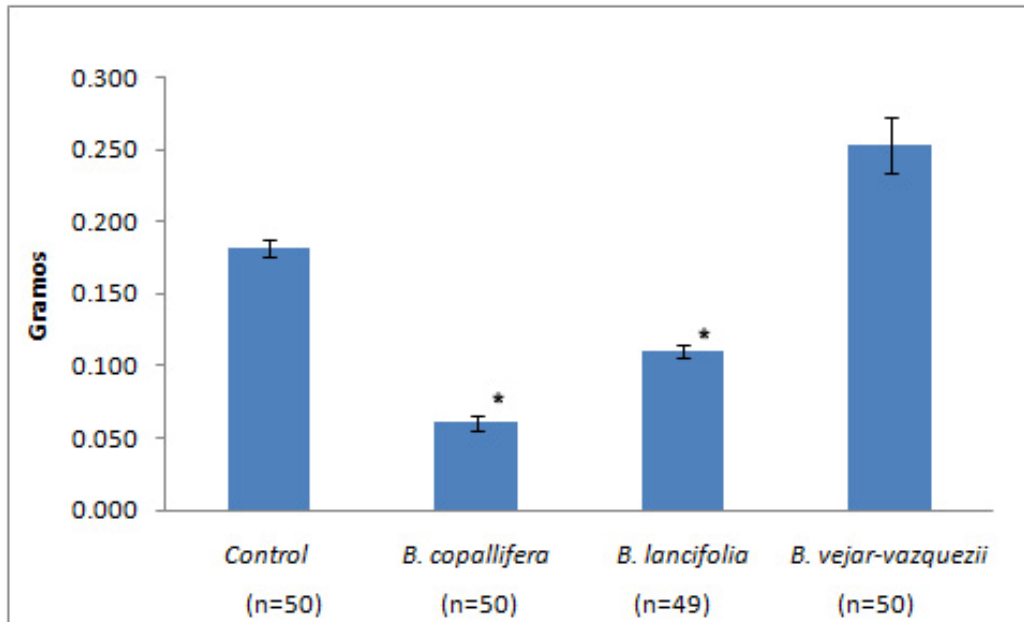
Tratamiento con extractos de acetato de etilo

Los parámetros registrados para los ensayos con extractos de acetato de etilo obtenidos de las tres especies estudiadas se presentan en la **Gráfica 11**. Los datos correspondientes a la talla de los organismos alimentados con dieta adicionada con los extractos de acetato de etilo mostraron que la reducción de talla más grande se presentó en el tratamiento de *B. copallifera*, cerca de 0.5 cm de reducción en la talla promedio. El experimento con extracto de *B. lancifolia* presentó una reducción menor que la observada por la anterior especie, sin embargo, sigue siendo una disminución estadísticamente significativa. En las larvas alimentadas con la dieta con extracto de acetato de etilo de la especie *B. vejar-vazquezii* se observó una tendencia a una talla más grande, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.



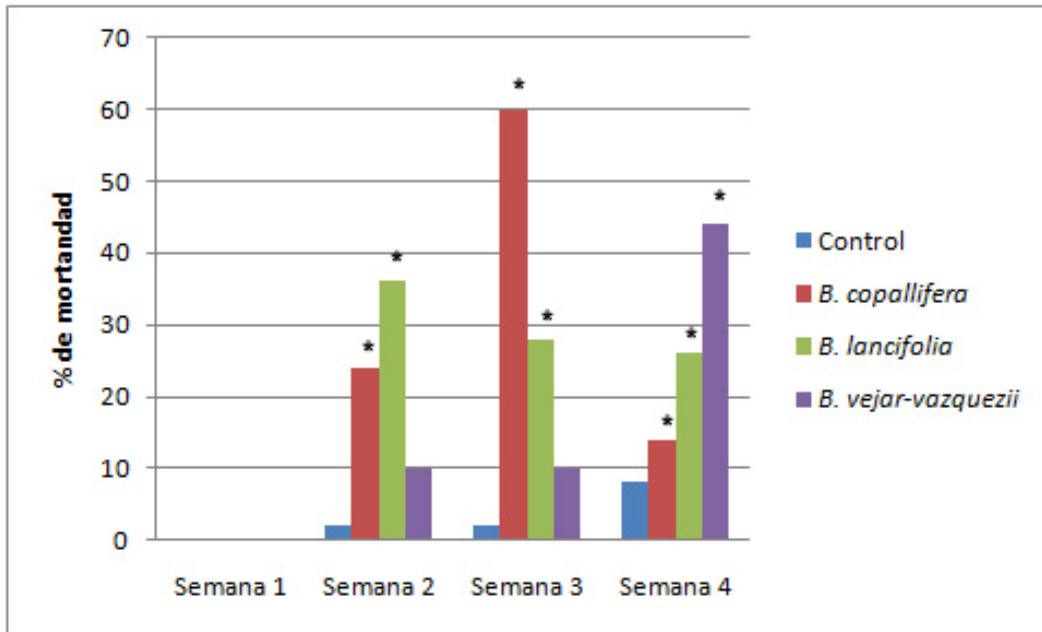
Gráfica 11. Efecto sobre la talla de *S. frugiperda* por la administración de extracto de acetato de etilo de las tres especies de *Bursera* (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Los datos correspondientes al peso de los organismos alimentados con dieta que contenía extractos de acetato de etilo, **Gráfica 12**, conservan la tendencia que exhibieron los datos de talla, con la diferencia de que los datos en los tratamientos con reducciones son menores en comparación con los datos de talla. El tratamiento de extracto de la especie *B. copallifera* presentó valores equivalentes a la tercera parte del peso registrado en el lote control, del mismo modo los datos correspondientes al lote experimental de dieta con extracto de *B. lancifolia* presentaron valores equivalentes a la mitad del peso registrado en el lote control. Los datos correspondientes al ensayo con extracto de *B. vejar-vazquezii* son superiores a los expuestos por el lote control sin embargo, estos presentan una variación importante entre sí y dichas diferencias en el peso no son estadísticamente significativas.



Gráfica 12. Efecto sobre el peso de *S. frugiperda* por la administración extracto de acetato de etilo de las tres especies de *Bursera* (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$)

La mortandad registrada en los ensayos de alimentación con dieta que contenía extractos de acetato de etilo se muestra en la **Gráfica 13**. El tratamiento con el extracto de *B. copallifera* presentó desde la segunda semana presenta una mortandad de más del 20%, para la tercera semana la mortandad presentó un valor de 60% y finalmente en la cuarta semana tiene un valor de más del 10%. El ensayo con extracto de *B. lancifolia* tuvo valores de mortandad que son constantes durante las últimas tres semanas de ensayo, siendo siempre superiores al 25%. Finalmente el régimen de alimentación con extractos de *B. vejar-vazquezii* solo presenta una mortandad significativa en la cuarta semana de ensayo, cuando el valor superó el 40%, las mortandades registrados en la segunda y tercera semana no superaron el 10% y no fueron estadísticamente significativas bajo el criterio de la prueba exacta de Fisher a 0.05.



Gráfica 13. Mortalidad semanal para los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de *Bursera*. (*) diferencias significativas bajo prueba exacta de Fisher a 0.05.

La pupación y emergencia de adultos registradas para los ensayos de alimentación con extractos de acetato de etilo son particularmente bajas para las especies *B. copallifera* y *B. lancifolia*, como se puede observar en la **Gráfica 14**. El tratamiento de *B. copallifera* presentó una reducción de pupación superior al 80%, mientras que el valor de emergencia ni siquiera llega al 10 %. Así mismo el lote con administración de extracto de *B. lancifolia* presentó una reducción importante en cuanto a pupación y emergencia se refiere, con valores del 37 y 10 % respectivamente. La pupación y emergencia mostrada por el tratamiento con *B. vejar-vazquezii* tuvo valores relativamente altos en comparación con los presentados por los otros tratamientos y aunque la pupación es del 80%, la emergencia si sufrió un reducción significativa de más del 40%.

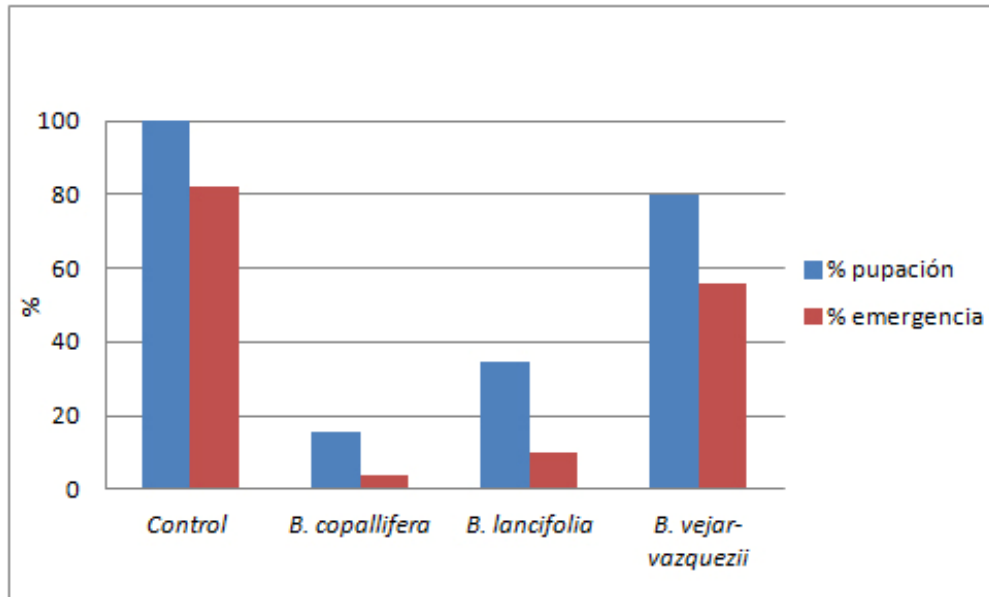
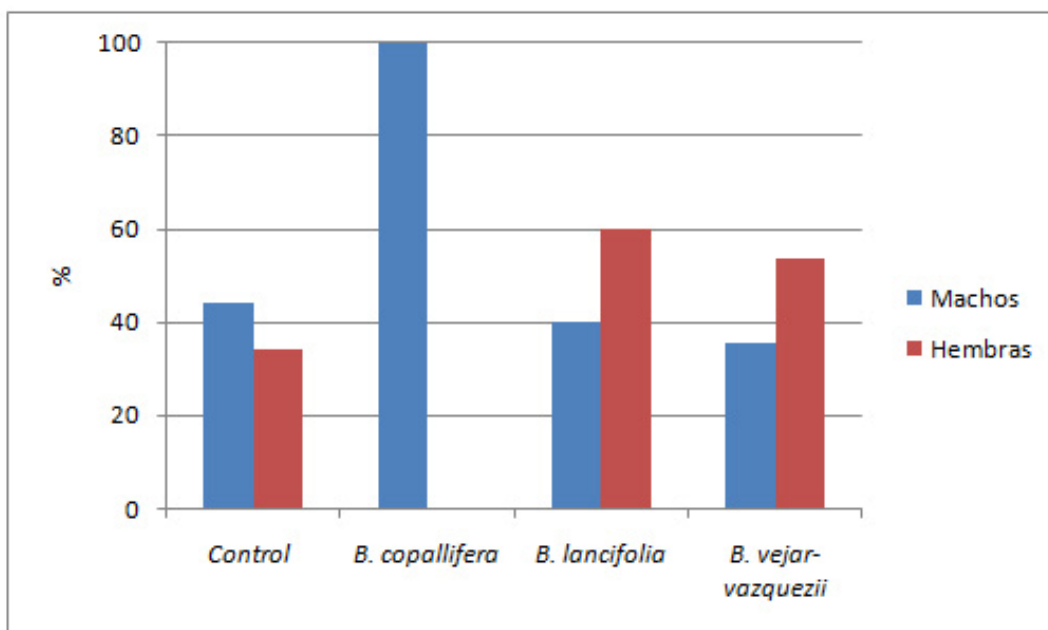


Gráfico 14. Porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia de adultos para los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de *Bursera*

Durante el registro de sexos, **Gráfico 15**, se observó un comportamiento muy similar al de los ensayos de alimentación con extractos hexánicos. La proporción se vio completamente afectada en el tratamiento con la especie *B. copallifera* donde se observa que únicamente hay adultos del sexo masculino. Por otra parte los experimentos con *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*, mostraron nuevamente una inversión de la proporción de sexos respecto a la obtenida en el lote control, con valores cercanos al 60% para hembras y 40 % para machos.

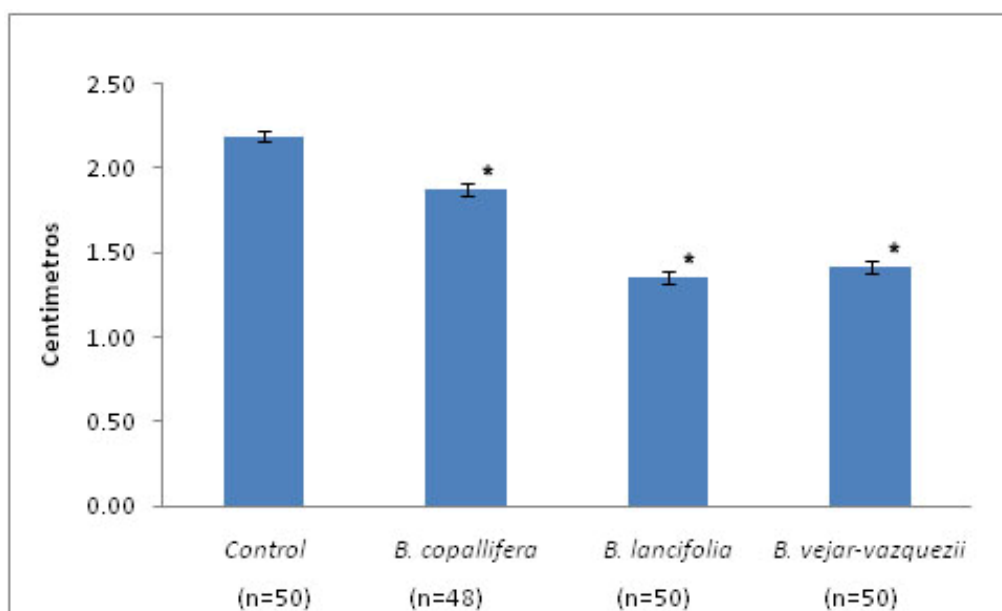


Gráfica 15. Proporción de sexos para los tratamientos con extracto de acetato de etilo de las tres especies de *Bursera*.

Los extractos de acetato de etilo poseen tanto terpenos como flavonoides y fueron éstos extractos los que provocaron los efectos más significativos durante su administración en cuanto a desarrollo del insecto modelo se refiere, principalmente por el extracto de *B. copallifera*. El extracto de la especie *B. vejar-vazquezii* no mostró diferencias estadísticamente significativas en ningún registro, salvo en la mortandad durante la última semana del ensayo sin embargo, esta mortandad no afectó de manera importante los parámetro de pupación, emergencia y proporción de sexos. Los extractos de *B. copallifera* y *B. lancifolia* presentaron efectos importantes sobre la mortandad llegando a alcanzar un valor de 60%, mismo que alteró de manera significativa la pupación, emergencia de adultos y proporción de sexos.

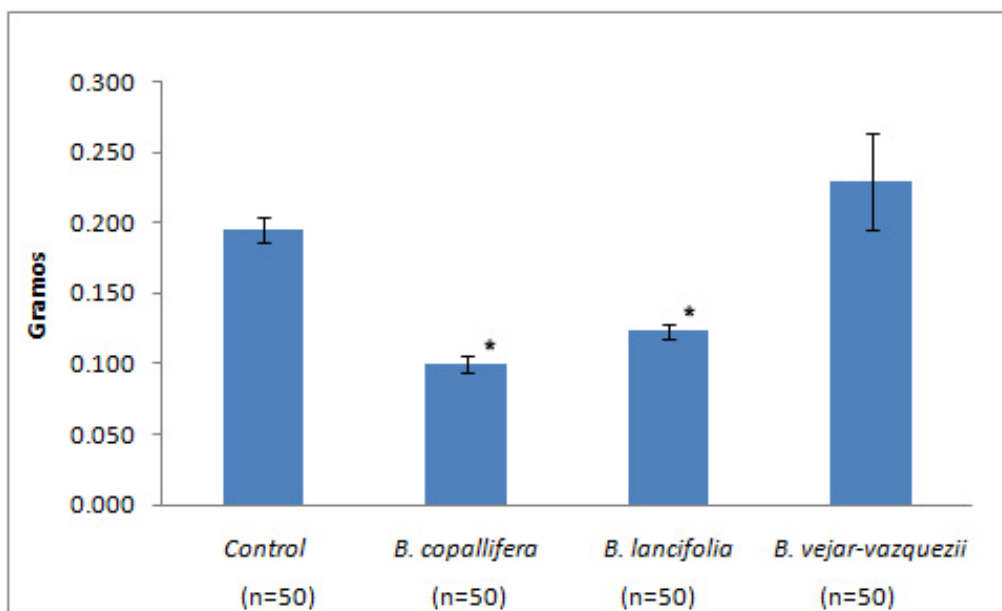
Tratamiento con extractos metanólicos

En la **Gráfica 16** se muestran los datos de talla obtenidos de los tratamientos implementados con los extractos metanólicos. El extracto metanólico de *B. copallifera* presentó pocas diferencias comparado con el control, aunque éstas fueron estadísticamente significativas. Por otro lado, en el ensayo con extracto de *B. vejar-vazquezii* se registraron valores ligeramente mayores que los de *B. lancifolia*, sin embargo las diferencias entre estos dos tratamientos no fueron estadísticamente significativas.



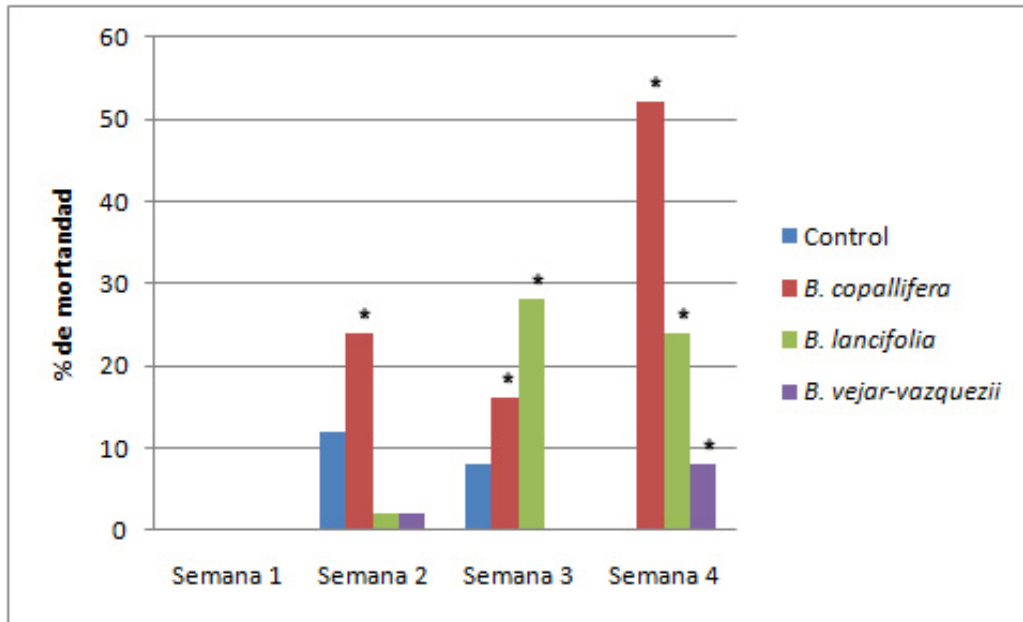
Gráfica 16. Efecto sobre la talla de *S. frugiperda* por la administración de extracto de metanólico de las tres especies de *Bursera*. (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$).

Los registros de peso obtenidos en los ensayos de alimentación con extractos metanólicos mostraron diferencias a lo observado en los ensayos del efecto sobre la talla. La **Gráfica 17** muestra que el tratamiento con el extracto metanólico de *B. vejar-vazquezii* tuvo una variabilidad grande y valores superiores a los observados en el lote control, pero éstos no fueron estadísticamente significativos. El tratamiento con el extracto metanólico de *B. copallifera* causó la mayor reducción sobre el peso de *S. frugiperda* (50%) en comparación con el control.



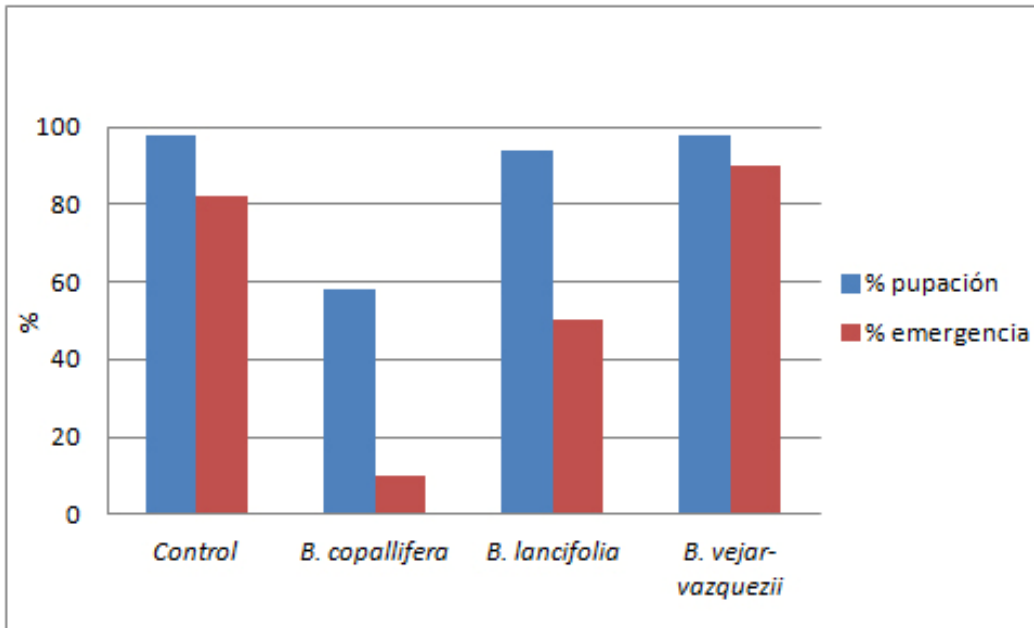
Gráfica 17. Efecto sobre el peso de *S. frugiperda* por la administración de extracto metanólico de las tres especies de *Bursera*. (promedio \pm ES). (*) diferencias estadísticamente significativas respecto al control (ANOVA con prueba de Tukey, $P < 0.05$)

En relación a la mortandad, el extracto metanólico de *B. copallifera* fue el que produjo una mortandad constante durante los registros semanales, con una lectura de 25 % en la segunda semana, una lectura superior al 15% en la tercera y finalmente un registro de mortandad superior al 50% en la cuarta. El tratamiento con el extracto metanólico de *B. lancifolia* tuvo una mortandad estadísticamente significativa, cercana al 30%, en la tercera semana, y de 24% en la última. El experimento con extracto metanólico de *B. vejar-vazquezii* no presentó diferencias estadísticamente significativas durante las primeras tres semanas de ensayo; en la cuarta semana la mortandad fue cercana al 10% y estadísticamente significativa, **Gráfica 18.**



Gráfica 18. Mortandad semanal para los tratamientos con extractos metanólicos de las tres especies de *Bursera*. (*) diferencias significativas bajo prueba exacta de Fisher a 0.05.

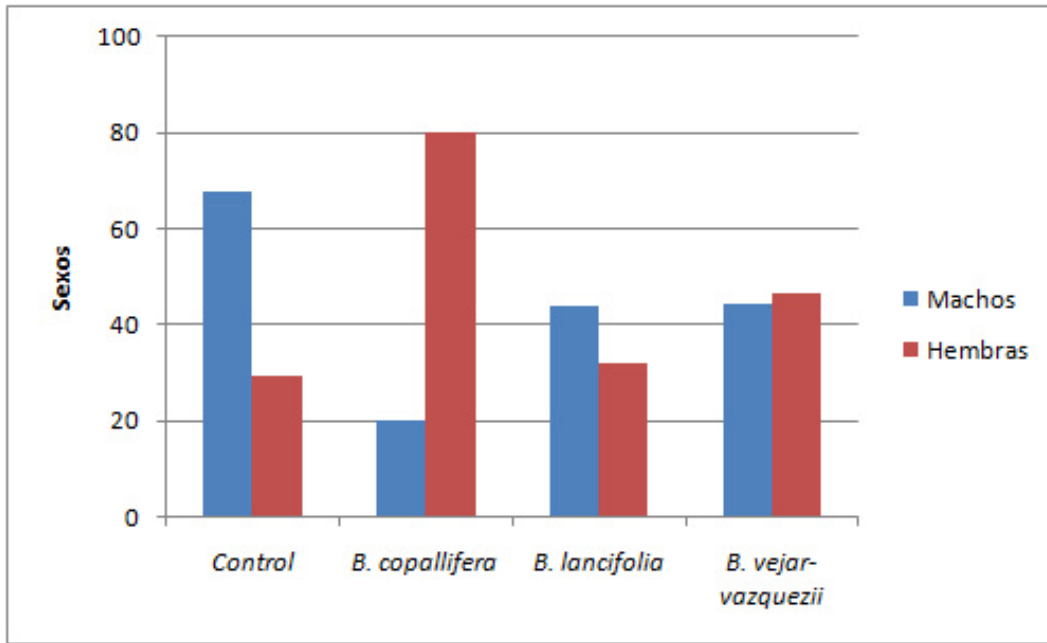
En la **Gráfica 19** se presentan los resultados respectivos a los porcentajes de pupación y emergencia correspondientes a los tratamientos con extractos metanólicos. La pupación en el ensayo de alimentación con la especie *B. copallifera* mostró un valor inferior al 60% y una emergencia del 10%, en este lote experimental se registraron los efectos más negativos. Aunque el régimen de alimentación con extracto de *B. lancifolia* alcanzó un porcentaje de pupación mayor al 90%, la emergencia de las pupas fue solo del 50%. El experimento implementado con el extracto de *B. vejar-vazquezii* tuvo un valor de pupación muy similar al lote control, mientras que la emergencia fue mayor.



Gráfica 19. Porcentaje de pupación y porcentaje de emergencia de adultos para los tratamientos con extracto metanólico de las tres especies de *Bursera*

Los extractos metanólicos de las tres especies produjeron una menor proporción de machos y una ligeramente mayor o muy alta proporción de hembras en comparación con el control.

Gráfica 20. El tratamiento con el extracto metanólico de *B. copallifera* mostró una inversión completa en cuanto a proporción de sexos se refiere, el porcentaje de machos fue de un 20% en contraste con el 80% de hembras. La proporción de sexos en los regímenes de alimentación con extractos de *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii* tuvieron una tendencia al equilibrio en la proporción de macho y hembras, siendo la proporción de hembras ligeramente mayor en el lote experimental con extracto de *B. vejar-vazquezii*.



Gráfica 20. Proporción de sexos para los tratamientos con extracto metanólico de las tres especies de *Bursera*.

Ensayos de corta duración

Los datos obtenidos de los experimentos de selección y no selección permitieron obtener los índices de disuasión y antiapetitivos de los extractos hexánicos; a partir de estos índices se identificó que los extractos hexánicos de las especies *B. copallifera* y *B. lancifolia* no poseen actividad disuasoria. De forma contraria, el extracto de *B. vejar-vazquezii* sí presentó actividad de disuasión. En cuanto al índice antiapetitivo es evidente la diferencia de actividad entre las especies, en este caso las especies *B. copallifera* y *B. lancifolia* presentaron valores que permiten catalogarlas como activas, pero son considerados como antiapetitivos ligeros. El extracto de *B. vejar-vazquezii* es considerado como un fuerte antiapetitivo, en función del valor obtenido en este ensayo, mismo que es el más cercano al obtenido por el control positivo consistente en extracto de *Azadirachta indica*, **Tabla 5**.

Tabla 5. Índices de disuasión e índices antiapetitivos de los extractos hexánicos (\pm error estándar, n=10).

Extracto	Índice de disuasión \pm ES	Índice antiapetitivo \pm ES
<i>B. copallifera</i>	33 \pm 2	31 \pm 4
<i>B. lancifolia</i>	44 \pm 3	33 \pm 5
<i>B. vejar-vazquezii</i>	18 \pm 3	72 \pm 4
<i>Azadirachta indica</i>	11 \pm 3	78 \pm 4

En la **Tabla 6** se presentan los datos correspondientes a los índices de disuasión y antiapetitivos obtenidos en los ensayos implementados con los extractos de acetato de etilo de las tres especies. Los índices de disuasión obtenidos indican que únicamente el extracto de *B. vejar-vazquezii* presenta actividad disuasoria, con un valor similar al presentado por el control positivo consistente en extracto de *Azadirachta indica*. En cuanto a la actividad evaluada mediante el índice antiapetitivo las especies activas fueron *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii* sin embargo, la diferencia de valores sitúa a *B. vejar-vazquezii* como la especie más activa, nuevamente con un valor más cercano al presentado por el control positivo.

Tabla 6. Índices de disuasión e índices antiapetitivos de los extractos de acetato de etilo (\pm error estándar, n=10).

Extracto	Índice de disuasión \pm ES	Índice antiapetitivo \pm ES
<i>B. copallifera</i>	39 \pm 2	22 \pm 4
<i>B. lancifolia</i>	36 \pm 3	39 \pm 5
<i>B. vejar-vazquezii</i>	16 \pm 3	75 \pm 4
<i>Azadirachta indica</i>	11 \pm 3	78 \pm 4

Los índices correspondientes a los extractos metanólicos son presentados en la **Tabla 7**, donde es posible observar que se mantiene el patrón de actividad presentado por los extractos anteriores. La disuasión se produjo únicamente en el tratamiento con extracto de la especie *B. vejar-vazquezii*. Las especies con actividad antialimentaria para los extractos metanólicos son *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*, siendo esta última la especie con mayor actividad, incluso mayor que la presentada por el extracto de *Azadirachta indica*.

Tabla 7. Índices de disuasión e índices antiapetitivos de los extractos metanólicos (\pm error estándar, n=10).

Extracto	Índice de disuasión \pm ES	Índice antiapetitivo \pm ES
Metanólico <i>B. copallifera</i>	38 \pm 3	21 \pm 3
Metanólico <i>B. lancifolia</i>	36 \pm 3	32 \pm 6
Metanólico <i>B. vejar-vazquezii</i>	21 \pm 3	84 \pm 3
<i>Azadirachta indica</i>	11 \pm 3	78 \pm 4

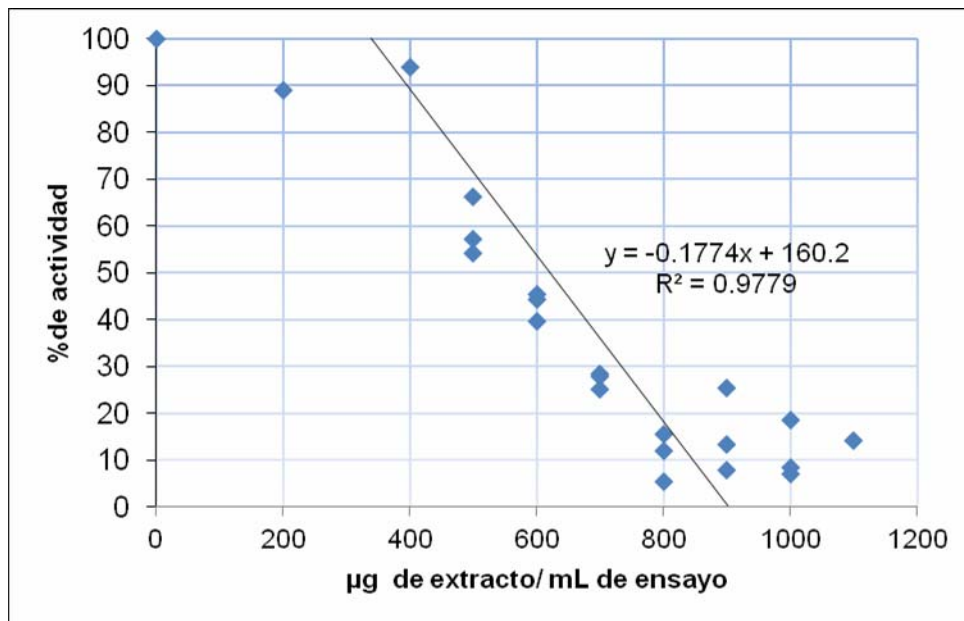
Inhibición de acetilcolinesterasa

Extractos hexánicos

A pesar de que se evaluaron altas concentraciones de los extractos de las tres especies, éstos fueron inactivos como inhibidores de la actividad de la acetilcolinesterasa.

Extractos de acetato de etilo

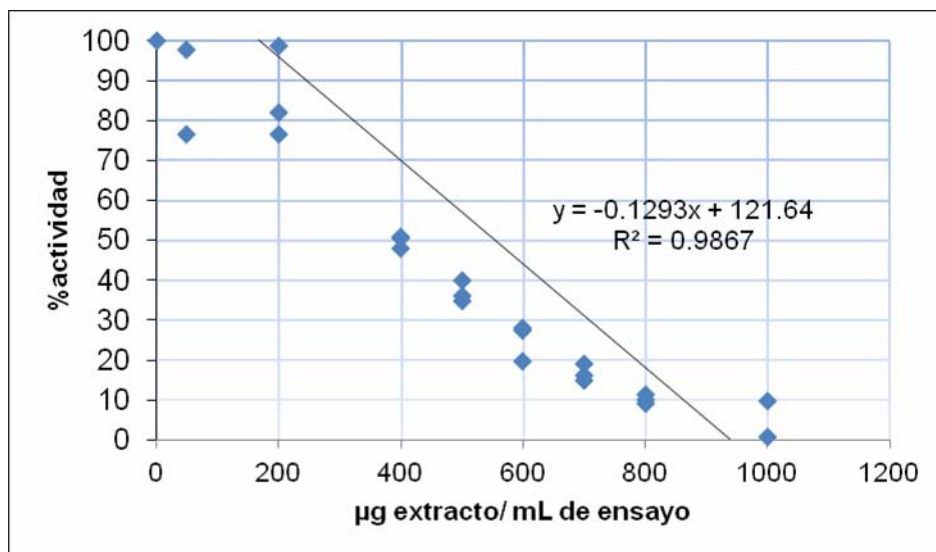
El extracto de acetato de etilo de *B. copallifera* inhibió la actividad de acetilcolinesterasa en un 82% a la concentración de 1000 µg/mL, dicho extracto presentó una IC₅₀ de 553 µg/mL (Gráfica 21).



Gráfica 21. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa de *S. frugiperda* por efecto del extracto de acetato de etilo de *B. copallifera*. Se presentan los valores obtenidos para la ecuación general de la recta así como la línea de tendencia.

El extracto de acetato de etilo de *B. lancifolia* presentó valores cercanos a una inhibición del 90% de la actividad enzimática a una concentración de 1000 µg/mL. Así mismo

presentó una IC_{50} de 397 $\mu\text{g/mL}$, la segunda más baja obtenida durante los ensayos (Gráfica 22).

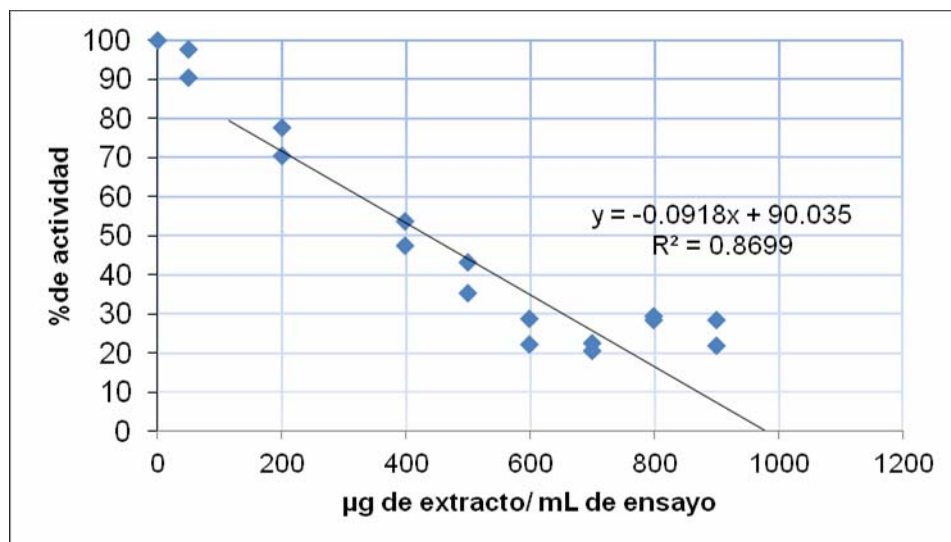


Gráfica 22. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa de *S. frugiperda* por efecto del extracto de acetato de etilo de la especie *B. lancifolia*. Se aprecian los valores obtenidos para la ecuación general de la recta así como la línea de tendencia.

El extracto de acetato de etilo de *B. vejar-vazquezii* no presentó actividad inhibitoria a las concentraciones evaluadas para los otros extractos.

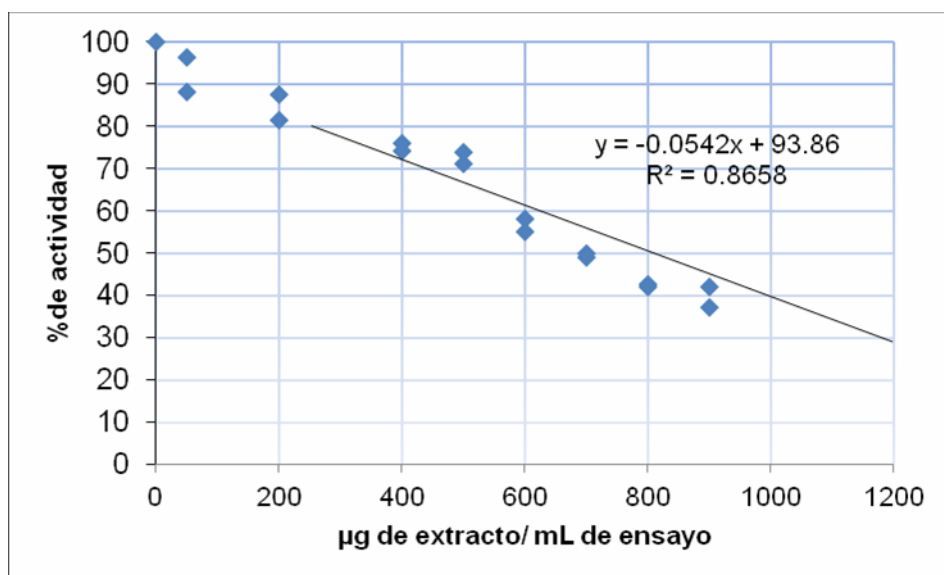
Extractos metanólicos

El extracto metanólico de *B. copallifera* presentó una inhibición enzimática correspondiente al 80% a una concentración de 700 $\mu\text{g/mL}$. Dicho extracto presentó una IC_{50} de 367 $\mu\text{g/mL}$, la menor concentración inhibitoria obtenida en los ensayos (Gráfica 23).



Gráfica 23. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa de *S. frugiperda* por efecto del extracto metanólico de *B. copallifera*. Se aprecian los valores obtenidos para la ecuación general de la recta así como la línea de tendencia.

El extracto metanólico de *B. lancifolia*, presentó una inhibición de la actividad enzimática superior al 60% a una concentración de 900 µg/mL, lo que significó un valor de IC₅₀ de 707 µg/mL (**Gráfica 24**).



Gráfica 24. Porcentaje de inhibición de la actividad de acetilcolinesterasa de *S. frugiperda* por efecto del extracto metanólico de la especie *B. lancifolia*. Se aprecian los valores obtenidos para la ecuación general de la recta así como la línea de tendencia.

A pesar de que el extracto metanólico de *B. vejar-vazquezii* fue evaluado a una concentración de 6000 µg/mL, no se observó ninguna reducción en la actividad enzimática.

A continuación se presenta la IC₅₀ obtenida para cada extracto en el ensayo *in vitro* de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa de *S. frugiperda* (**Tabla 8**).

Tabla 8. Concentración inhibitoria 50 de los extractos de las tres especies de *Bursera* sobre la actividad de la enzima acetilcolinesterasa

Especie	Extracto hexánico	Extracto de acetato de etilo	Extracto metanólico
<i>B. copallifera</i>	----	553	700
<i>B. lancifolia</i>	----	397	900
<i>B. vejar-vazquezii</i>	----	----	----

Análisis cromatográfico de los extractos

Análisis de extractos hexánicos

Las imágenes de la observación de las placas con luz ultravioleta de onda corta (254 nm), de onda larga (365 nm) y de la placa cromatográfica tratada con revelador de anisaldehído vista con luz blanca se presentan en la **Imagen 7**.

Las imágenes de la placa bajo luz ultra violeta de onda corta (**1**) y de onda larga (**2**) permitieron indentificar diferencias en el patrón de manchas del extracto (↔). Así mismo la placa observada con luz ultravioleta de onda larga (**2**) mostró la complejidad del extracto crudo, en esta placa es posible ver diferencias importantes en la presencia e intensidad de las manchas en los extractos. La placa tratada mediante el revelador de anisaldehído para compuestos terpénicos demostró la presencia de éstos en la parte de baja polaridad de la placa. Este revelador mostró tres manchas, que pueden tratarse de uno o varios compuestos en cada extracto, en la zona alta de la placa que se presentan en solo uno de los extractos analizados (↔). Las manchas reveladas mediante el revelador varían de un extracto a otro solo por la intensidad de las mismas.

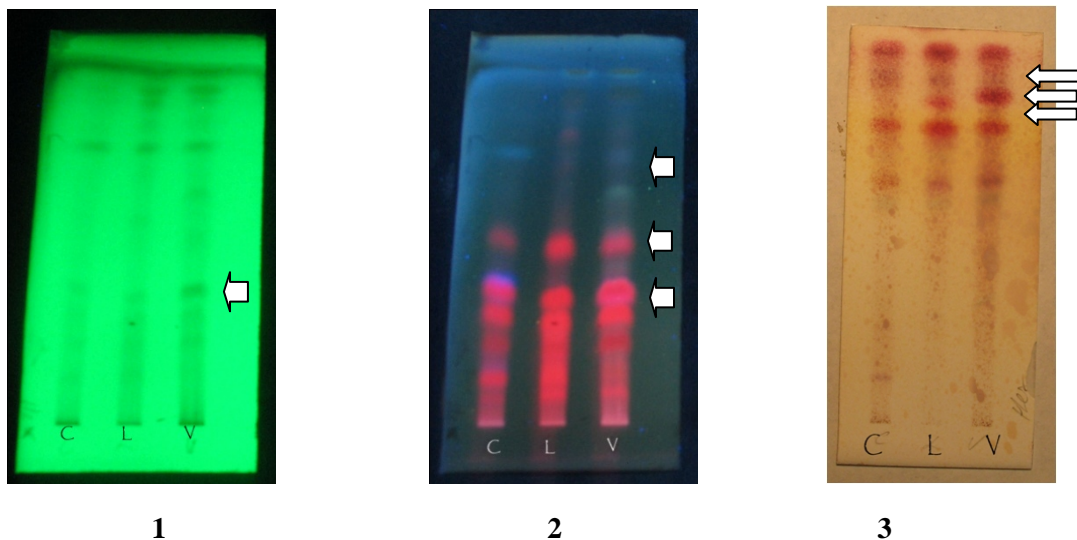


Imagen 7. Placas cromatográficas de los extractos hexánicos (C: *B. copallifera*, L: *B. lancifolia*, V: *B. vejar-vazquezii*) vistas bajo luz ultravioleta de onda corta (**1**), luz ultravioleta de onda larga (**2**) y revelada con anisaldehído (**3**).

Análisis de extractos de acetato de etilo

Las imágenes de las placas con luz ultravioleta de onda corta (254 nm), de onda larga (365 nm) y de la placa cromatográfica tratada con revelador de productos naturales (RPN) vista con luz ultravioleta de onda larga (365 nm) se presentan en la **Imagen 8**.

Al observar la placa con luz ultravioleta de onda corta (**4**) y con luz ultravioleta de onda larga (**5**) se aprecia una mancha constante en los extractos (⊙) sin embargo, lo más notorio son las diferencias presentes en la región de baja polaridad (⊞). Al revelar la placa con anisaldehído (**6**) se confirma la similitud y las diferencias observadas con luz ultravioleta. Finalmente al analizar la placa tratada con RPN (**7**) se aprecia nuevamente la mancha que comparten los extractos en la zona media de la placa cromatográfica, pero lo más notorio nuevamente son las importantes diferencias en el perfil cromatográfico de los extractos.

Las diferencias de coloración en las placas tratadas con reveladores específicos permiten suponer que los compuestos presentes en dichas manchas son de distinta naturaleza entre ellos.

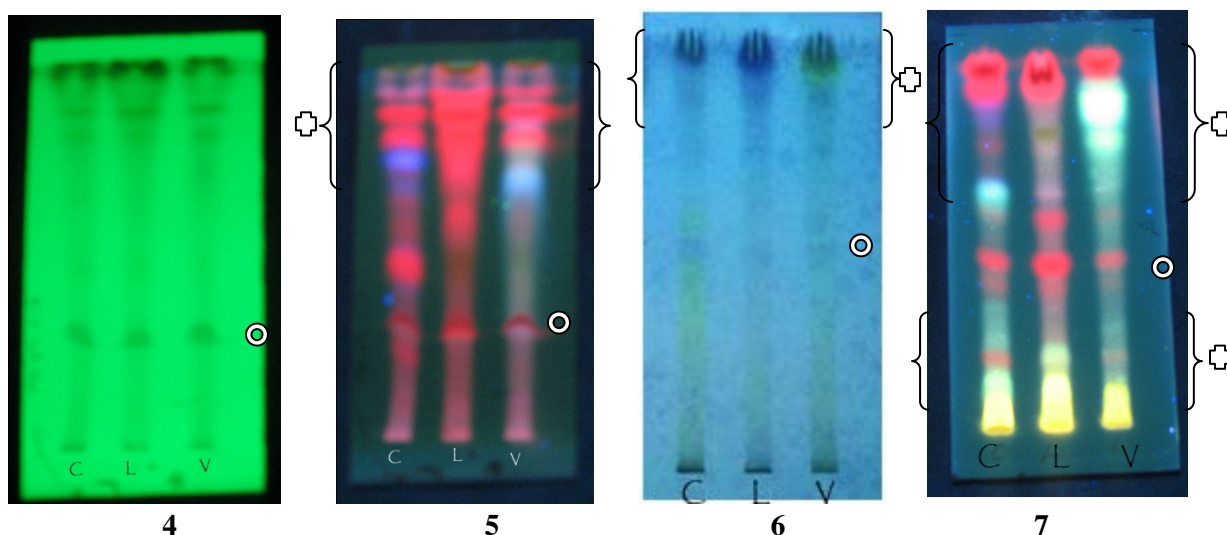


Imagen 8. Placas cromatográficas de los extractos de acetato de etilo (C: *B. copallifera*, L: *B. lancifolia*, V: *B. vejar-vazquezii*) vistas bajo luz ultravioleta de onda corta (**4**), luz ultravioleta de onda larga (**5**), revelada con anisaldehído (**6**) y reveladas con RPN (**7**).

Análisis de extractos metanólicos

Las imágenes de la observación de las placas con luz ultravioleta de onda corta (254 nm), de onda larga (365 nm) y la placa cromatográfica tratada con revelador de productos naturales (RPN) se presentan en la **Imagen 9**.

La placa observada con luz ultravioleta de onda corta (**8**) permitió observar diferencias importantes entre los extractos; la más puntual se ve en la zona de baja polaridad donde se observa una mancha en el extracto de *B. vejar-vazquezii* que no se presenta en los otros extractos (○). Así mismo, se puede observar una similitud en la zona media de la placa (◇). Al revisar la placa con luz ultravioleta de onda larga (**9**) es posible observar nuevamente las diferencias y similitudes acotadas en la placa anterior.

La placa revelada con RPN (**10**), evidenció similitudes en la zona de alta polaridad es posible observar ciertas diferencias en las coloraciones estudiadas, aquí se pueden resaltar 4 zonas donde la mancha presenta diferencias entre los extractos (↗). En la zona de menor polaridad se observan 4 manchas con diferencias en concentración (↔), pero que resultan constantes en los tres extractos.

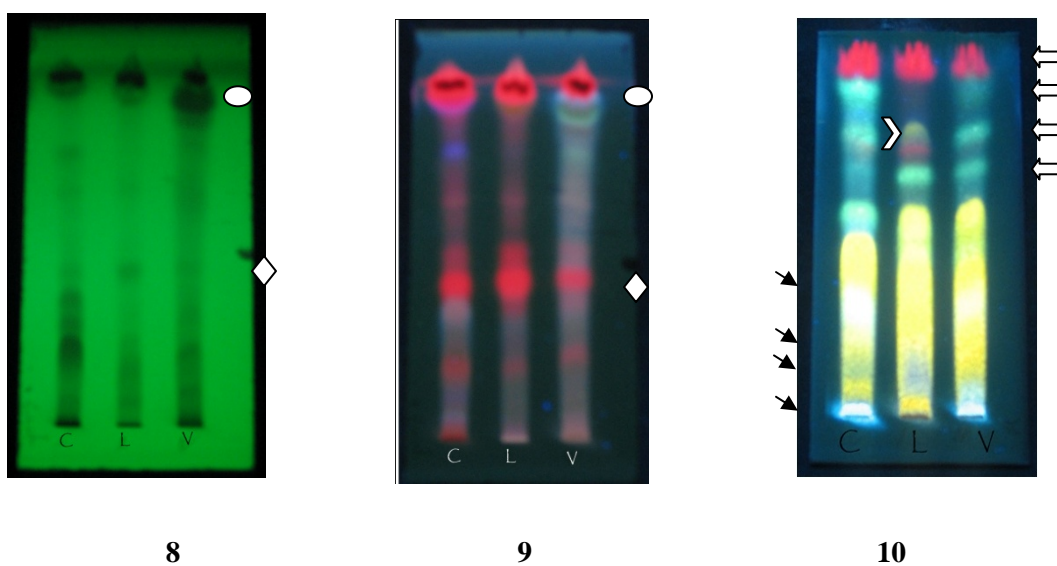


Imagen 9. Placas cromatográficas de los extractos metanólicos (C: *B. copallifera*, L: *B. lancifolia*, V: *B. vejar-vazquezii*) vistas bajo luz ultravioleta de onda corta (**8**), luz ultravioleta de onda larga (**9**) y reveladas con RPN (**10**).

La placa cromatográfica para los extractos de acetato de etilo, desarrollada con estándares de flavonoides, sugiere que éstos presentan quercetina pues los Rf y las coloraciones obtenidas mediante el uso de RPN son bastante similares. La fase móvil empleada para el desarrollo de esta placa permitió ver la complejidad de los extractos para este tipo de compuestos en particular, adicionalmente fue posible determinar que la zona de baja polaridad de los extractos es la más similar, mientras que las zonas de mediana y alta polaridad son las más diferentes, principalmente por la intensidad de las manchas reveladas. Cabe destacar que los extractos de las especies *B. copallifera* y *B. vejar-vazquezii* son, en apariencia, los más diferentes (**Imagen 10**)

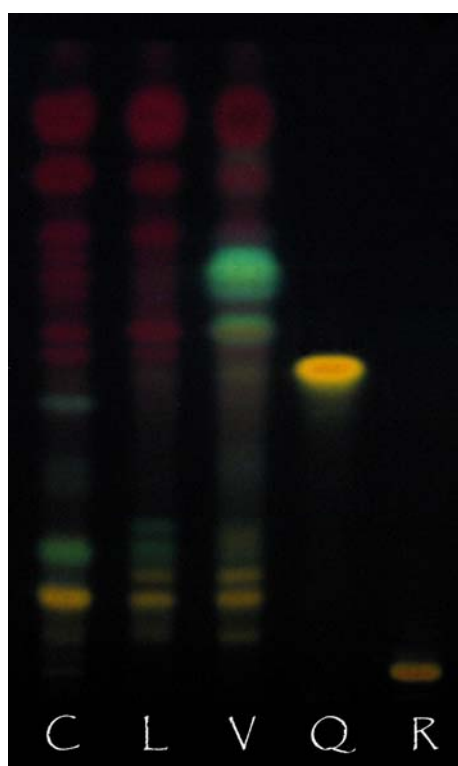


Imagen 10. Placa cromatográfica de los extractos de acetato de etilo con estándares internos de flavonoides (**C:** *B. copallifera*, **L:** *B. lancifolia*, **V:** *B. vejar-vazquezii*, **Q:** quercetina, **R:** rutina) revelada con RPN.

En el caso de los extractos metanólicos podemos teorizar nuevamente sobre la presencia de quercetina en los extractos, la especie que los posee en la menor concentración es *B. copallifera*, toda vez que los extractos fueron aplicados a la misma concentración. La placa permitió evidenciar que la zona más similar entre los extractos es la de mayor

polaridad y que las especies más similares en esta zona son *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii*. La muestra correspondiente al extracto metanólico de *B. copallifera* resulta diferente a las otras dos muestras por los Rf de las manchas, e incluso cuando las manchas coinciden en Rf, en éste extracto difieren en intensidad (**Imagen 11**).

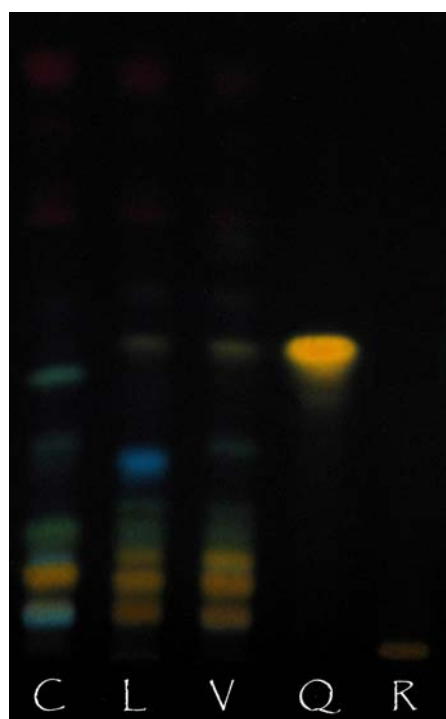


Imagen 11. Placa cromatográfica de los extractos metanolicos con estándares internos de flavonoides (**C:** *B. copallifera*, **L:** *B. lancifolia*, **V:** *B. vejar-vazquezii*, **Q:** quercetina, **R:** rutina) revelada con RPN.

Análisis de densitometría por video escáner

El análisis de densitometría por video escáner permitió determinar las similitudes y diferencias que presentan las placas cromatográficas de acuerdo a los Rf detectados. Con lo anterior fue posible concluir que los extractos hexánicos son muy parecidos entre sí con un porcentaje de similitud de 80 % entre las especies *B. copallifera*-*B. lancifolia* y *B. lancifolia*-*B. vejar-vazquezii*, mientras que la comparación entre *B. copallifera*- *B. vejar-vazquezii* mostró un 60% de similitud.

Los resultados correspondientes al análisis de los extractos hexánicos son presentados en las **Tablas 9 y 10**.

Tabla 9. Análisis de los extractos hexánicos, donde se indica el Rf de cada mancha detectada y el valor de área bajo la curva para dicha mancha, también se presenta el valor del porcentaje de cada mancha.

	<i>B. copallifera</i>	<i>B. lancifolia</i>	<i>B. vejar-vazquezii</i>
Rf 1 (0.62)	11,077.61	14,683.34	14,215.29
% por mancha	15.84	11.85	11.99
Rf 2 (0.76)	17,824.12	47,199.07	27,116.68
% por mancha	25.48	38.09	22.87
Rf 3 (0.81)	----	11,851.07	31,995.48
% por mancha	----	9.57	26.98
Rf 4 (0.87)	8,353.04	3,467.80	----
% por mancha	11.94	2.80	----
Rf 5 (0.95)	32,691.34	46,697.10	45,263.73
% por mancha	46.74	37.69	38.17

Tabla 10. Porcentaje de similitud entre extractos hexánicos.

Comparación de extractos	% de similitud
<i>B. copallifera/B. lancifolia</i>	80
<i>B. copallifera/B. vejar-vazquezii</i>	60
<i>B. lancifolia/B. vejar-vazquezii</i>	80

Los extractos de acetato de etilo presentaron una menor similitud entre ellos, con un valor de 50% entre todas las comparaciones *B. copallifera*- *B. lancifolia*, *B. copallifera*- *B. vejar-vazquezii* y *B. lancifolia*- *B. vejar-vazquezii*.

Los resultados correspondientes al análisis de los extractos de acetato de etilo son presentados en las **Tablas 11 y 12**.

Tabla 11. Análisis de los extractos de acetato de etilo, donde se indica el Rf de cada mancha detectada y el valor de área bajo la curva para dicha mancha, también se presenta el valor del porcentaje de cada mancha.

	<i>B. copallifera</i>	<i>B. lancifolia</i>	<i>B. vejar-vazquezii</i>
Rf 1 (0.18)	24,627.98	15,213.44	16,116.93
% por mancha	7.66	3.25	4.97
Rf 2 (0.26)	----	----	1,944.17
% por mancha	----	----	0.60
Rf 3 (0.21)	9,417.18	----	----
% por mancha	2.93	----	----
Rf 4 (0.31)	5,929.72	----	----
% por mancha	1.84	----	----
Rf 5 (0.36)	2,696.30	----	----
% por mancha	0.84	----	----
Rf 7 (0.43)	64,060.21	92,296.33	59,871.34
% por mancha	19.92	19.70	18.46
Rf 8 (0.54)	13,696.45	57,791.16	14,932.05
% por mancha	4.26	12.33	4.60
Rf 9 (0.60)	16,962.46	15,337.17	6,866.73
% por mancha	5.27	3.27	2.12
Rf 10 (0.72)	17,489.09	14,855.51	19,947.28
% por mancha	5.44	3.17	6.15
Rf 11 (0.86)	159,282.72	273,084.91	78,884.74
% por mancha	49.53	58.28	24.33
Rf 12 (0.93)	----	----	125,704.98
% por mancha	----	----	38.77

Tabla 12. Porcentaje de similitud entre extractos de acetato de etilo.

Comparación de extractos	% de similitud
<i>B. copallifera/B. lancifolia</i>	50
<i>B. copallifera/B. vejar-vazquezii</i>	50
<i>B. lancifolia/B. vejar-vazquezii</i>	50

Los extractos metanólicos presentaron mayor diferencia entre sí, evidente en los porcentajes de similitud con un 50 % entre los extractos de *B. copallifera-B. lancifolia* y entre los extractos de *B. lancifolia-B. vejar-vazquezii*. La similitud es aun más baja (33%) al realizar la comparación entre los extractos metanólicos correspondientes a *B. copallifera-B. vejar-vazquezii*, **Tablas 13 y 14**.

Tabla 13. Análisis de los extractos metanólicos, donde se indica el Rf de cada mancha detectada y el valor de área bajo la curva para dicha mancha, también se presenta el valor del porcentaje de cada mancha.

	<i>B. copallifera</i>	<i>B. lancifolia</i>	<i>B. vejar-vazquezii</i>
Rf 1 (0.53)	28,884.04	67,611.81	66,833.87
% por mancha	14.20	22.33	33.59
Rf 2 (0.63)	----	14,039.12	6,073.65
% por mancha	----	4.64	3.05
Rf 3 (0.72)	33,327.57	43,190.20	----
% por mancha	16.39	14.26	----
Rf 4 (0.74)	----	----	9,435.50
% por mancha	----	----	4.74
Rf 5 (0.85)	4,391.76	----	----
% por mancha	2.16	----	----
Rf 6 (0.93)	136,777.86	177,994.94	116,616.73
% por mancha	67.25	58.78	58.61

Tabla 14. Porcentaje de similitud entre extractos metanólicos.

Comparación de extractos	% de similitud
<i>B. copallifera/B. lancifolia</i>	50
<i>B. copallifera/B. vejar-vazquezii</i>	33
<i>B. lancifolia/B. vejar-vazquezii</i>	50

Discusión

Los mayores rendimientos se presentaron en los extractos metánolicos, los de mayor polaridad, de las tres especies de *Bursera*, mientras que los de mediana y baja polaridad son extractos con bajo rendimiento. Lo anterior parecería contradecir los datos que indican que las especies del género son ricas en resinas y compuestos de baja polaridad (Cuatrecasas, 1957; Swart, 1942b), sin embargo, este resultado se explica por el hecho de que la mayor cantidad de resinas se encuentra en la corteza. Es singular observar que la especie *B. lancifolia* presentó el mayor rendimiento en el extracto hexánico, cuando las otras especies pertenecen a la sección de *Bullokia* que se caracteriza por sus resinas (Langenheim, 2003).

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de emplear la mayor cantidad posible de muestra vegetal a fin de continuar la investigación con un fraccionamiento biodirigido de aquellos extractos con mayor actividad. Sin embargo, la cantidad obtenida permite la evaluación de la actividad biológica en la alimentación del insecto modelo, así como en los ensayos de inhibición de acetilcolinesterasa.

En cuanto a los ensayos con hoja seca incorporada a la dieta podemos observar dos comportamientos diferentes: mientras que las especies *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii* causaron una importante reducción de talla y peso, así como una alta mortandad; la especie *B. copallifera* produjo una reducción menor en talla y peso, pero en la mortandad se observó un aumento semanal de la misma. La variación de los resultados en estos ensayos puede deberse a las diferencias morfológicas y químicas que existen entre las especies (Toledo Manzur, 1982).

Los datos referentes a los efectos de los tratamientos con extractos hexánicos en los ensayos de larga duración con dieta indican que las especies *B. copallifera* y *B. lancifolia* son las más activas al impactar de manera altamente contundente significativa sobre el crecimiento, así como el desarrollo del insecto al evitar el paso a pupa y la emergencia de los organismos bajo ensayo. Sin embargo, al contrastar estos resultados con los obtenidos en los ensayos de corta duración observamos que la única especie que se cataloga como un fuerte antialimentario es la especie *B. vejar-vazquezii*. En conjunto estos resultados explican la falta de actividad de *B. vejar-vazquezii* en los ensayos de larga duración, pues los

extractos activos como antialimentarios suelen perder actividad al exponerse de manera prolongada al ambiente y no necesariamente deben presentar un efecto adverso posterior a su consumo (Isman, 2006); este tipo de efectos solo se pueden evaluar al realizar los dos tipos de ensayos (Koul, 2005). Los parámetros de emergencia, pupación, proporción de sexos y emergencia de adultos se vieron directamente afectados por la alta mortandad causada por los extractos hexánicos.

Los datos referentes a los efectos de los tratamientos con extractos hexánicos en ensayos con dieta indican que las especies *B. copallifera* y *B. lancifolia* son las más activas al inhibir muy significativamente el crecimiento, así como el desarrollo del insecto al evitar el paso a pupa y la emergencia de los organismos bajo ensayo.

Aunque los terpenos han sido reportados como inhibidores de la acetilcolinesterasa (López y Pascual-Villalobos, 2010) y los extractos hexánico presentaron un alto contenidos de éstos, la falta de actividad de inhibición de esta enzima puede explicarse, en parte, a la dificultad de disolución, pues a pesar de haber empleado un detergente durante los ensayos *in vitro* se formó una emulsión del extracto y esto redujó la superficie de contacto.

Las diferencias observadas en el perfil de terpenos para estos extractos, permite explicar las diferencias en el efecto de las tres especies, las cuales posiblemente determinan la distinta actividad que muestran los extractos. Para corroborar dichas suposición sería necesario realizar un estudio fitoquímico biodirigido de los extractos.

Los extractos de acetato de etilo poseen tanto terpenos como flavonoides y fueron éstos extractos los que presentaron efectos más significativos sobre el desarrollo del insecto modelo, principalmente el extracto de *B. copallifera*. El extracto de la especie *B. vejar-vazquezii* no presentó diferencias estadísticamente significativas en ningún parámetro, salvo en la mortandad registrada en la última semana del ensayo, sin embargo, no afectó los parámetros de pupación, emergencia y proporción de sexos. Los extractos de *B. copallifera* y *B. lancifolia* presentaron efectos importantes sobre la mortandad llegando a alcanzar una mortandad semanal de 60%, mismos que alteraron de manera significativa los parámetros de pupación emergencia de adultos y proporción de sexos. A diferencia de los extractos de las otras especies, el de *B. vejar-vazquezii* no presentó actividad inhibitoria de

acetilcolinesterasa, a pesar de que éste se evaluó a concentraciones superiores a las evaluadas con los otros extractos. Las diferencias observadas en los perfiles cromatográficos de estos extractos son básicamente de intensidad en las manchas, sin embargo esta intensidad interpretada como diferencia de concentración, puede ser la causante de las diferencias de actividad biológica. Los resultados obtenidos en los tratamientos con extracto de acetato de etilo de *B. copallifera* son similares a los obtenidos por Aldana y colaboradores (2010), al ser uno de los extractos más activos en cuanto a la mortandad y la ganancia de peso.

A pesar de la falta de actividad por parte del extracto de acetato de etilo de *B. vejar-vazquezii* en los ensayos con dieta, este extracto fue el más activo como antialimentario en los ensayos de corta duración. Islam y Becerra (2011) refieren que los componentes mayoritarios del aceite esencial de *B. vejar-vazquezii* es el β -felandreno, cariofileno, heptano y nonano, mencionando que éstos pueden estar involucrados en la protección frente a herbívoros en esta planta. El β -felandreno fue identificado en las heces que los escarabajos *Blepharida* usan sobre su cuerpo como protección, lo que nos habla de la actividad de este compuesto.

Los extractos metanólicos presentaron el mismo patrón de comportamiento que los extractos de acetato de etilo, mientras que los extractos de *B. copallifera* y *B. lancifolia* demostraron actividad en los ensayos de larga duración y de inhibición de acetilcolinesterasa. El extracto de *B. vejar-vazquezii* es el único que tuvo actividad en los ensayos de corta duración, misma que es comparable a la presentada por el control positivo. Los perfiles de los extractos metanólicos muestran una importante presencia de flavonoides en las tres especies. Se ha reportado a los flavonoides como importantes inhibidores de acetilcolinesterasa (Khan *et al.*, 2009; Ahmad *et al.*, 2003). Las diferencias entre los perfiles de *B. copallifera* y *B. lancifolia*, al ser comparados con el perfil de *B. vejar-vazquezii*, pueden ser los responsables de la diferencia de las actividades biológicas evaluadas, por lo que se propone realizar una separación de estos componentes en futuros trabajos.

Las diferencias en el perfil cromatográfico de los extractos de *B. copallifera* y *B. vejar-vazquezii* son las más importantes, con un índice de similitud de 33% entre éstas, de forma

singular esta baja similitud se presenta entre las dos especies más cercanas taxonómicamente hablando (Espinosa, 2007), a pesar de que se ha reportado que la evolución química en el género *Bursera* es más lenta que la evolución de los caracteres morfológicos (Becerra y Lawrence, 1999).

Conclusiones

- La incorporación de hoja de las tres especies de *Bursera* causa efectos negativos en el desarrollo de *S. frugiperda*. La hoja seca de las tres especies estudiadas incorporada a la dieta de *S. frugiperda* presentó efectos negativos sobre el desarrollo del insecto, siendo las hojas de las especies *B. lancifolia* y *B. vejar-vazquezii* las que causaron los efectos más negativos en talla y peso.
- Los extractos hexánicos tienen efectos negativos sobre el desarrollo por efecto de la alimentación prolongada. Los extractos de las especies *B. copallifera* y *B. lancifolia* presentaron efectos negativos sobre la ganancia de talla y peso del insecto, siendo el extracto de *B. copallifera* el que causó los efectos más significativos. La mortandad se incrementó en todos los tratamientos.
- Los extractos de acetato de etilo causaron una reducción en la talla y peso, así como un aumento en la mortandad. Sin embargo el tratamiento con extracto de *B.vejar-vazquezii* no presentó diferencias estadísticamente significativas.
- Los extractos metanólicos de *B. copallifera* y *B. lancifolia* son antialimentarios. Los resultados son similares a los presentados por los extractos de acetato de etilo, disminución de talla y peso, al igual que un aumento en la mortandad.
- Los tres extractos de *B. vejar-vazquezii* son disuasivos de la alimentación. En los ensayos de corta duración presentaron una actividad parecida al extracto de *A. indica*.
- Ningún extracto hexánico presentó actividad inhibitoria de acetilcolinesterasa.
- Los extractos de acetato de etilo y metanólico de *B. vejar-vazquezi* no presentaron actividad inhibitoria de acetilcolinesterasa.
- Los extractos de acetato de etilo de *B. copallifera* y *B. lancifolia* presentan actividad inhibitoria de acetilcolinesterasa en los ensayos *in vitro*.
- Los extractos metanólicos de *B. copallifera* y *B. lancifolia* fueron activos como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa en los ensayos *in vitro*.

Anexo

Preparación de la dieta artificial para *Spodoptera frugiperda*

Ingredientes:

- Ácido sórbico
- Agua destilada
- Dieta para *Diatraea grandiosea* (Product N° F0635 Southwestern Corn Borer, Bio-Serv, Canada)
- Espiga de maíz esterilizada
- Formaldehído
- Levadura de cerveza
- Maíz molido
- Metil parabeno
- Sulfato de neomicina
- Vitaminas (vitamin mix fortification lepidoptera Bio-Serv, Canada)

Para preparar 1 Kg de dieta artificial se usa la siguiente receta:

Se mezclan de manera uniforme 60 g de dieta para *Diatraea grandiosea*, 100 g de maíz molido, 20 g de espiga de maíz esterilizada, 40 g de levadura de cerveza, 10 g de vitaminas (vitamin mix fortification lepidoptera Bio-Serv, Canada), 0.6 g de sulfato de neomicina y 1.7 g de metil parabeno. Esta mezcla de ingredientes secos se mezclan con 200 mL de agua destilada.

Se disuelven 10 g de agar en 450 mL de agua destilada a punto de ebullición, una vez que el agar se haya disuelto completamente se agregan 150 mL de agua destilada para bajar la temperatura del agar.

Se disuelven 1.7 g de ácido sórbico en 17 mL de etanol caliente.

Todos los ingredientes mencionados se licuan juntos y se agregan 2.5 mL de formaldehído durante este proceso, después de 5 minutos de licuar de manera continua se deja enfriar la mezcla.

Bibliografía

- Aldana, L. Salinas, D. Valdés, M. E. Gutiérrez, M. y Valladares, M. (2010). Evaluación bioinsecticida de extractos de *Bursera copallifera* (D.C.) Bullock y *Bursera grandifolia* (Schltld.) Engl. en gusano cogollero *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Polibotanica. 29: 149-158.
- Altieri, M. A. Letourneau, D. K. y Davis, R. D. (1983). Developing sustainable agroecosystems. BioScience. 33(1): 45-49.
- Ahmad, W. Ahmad, B. Ahmad, M. Iqbal, Z. Nisar, M. y Ahmad, M. (2003). *In vitro* Inhibition of Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Lipoxygenase by Crude Extract of *Myricaria elegans* Royle. Journal of Biological Sciences. 3(11): 1046-1049
- Anaya, M. (2003). Ecología química. Plaza y Valdés. México. pp 349.
- Andrews, K. L. (1980). The whorlworm, *Spodoptera frugiperda*, in Central America and neighboring areas. The Florida Entomologist. 63(4): 456-467.
- Ara, K. Rahman, M. Rahman, A. Hassan, C. y Rashid, M. (2009). Terpenoids and coumarin from *Bursera serrata* Wall. Dhaka Univ. Journal of Pharmaceutical Sciences. 8(2):107-110.
- Arora, S. K. Bates, R. B. Grady, R. A. Germain, G. y Declercq, J. P. (1975). Crystal and molecular structure of (beta)-peltatin a methyl ether. Journal of Organic Chemistry. 40(1): 28-31.
- Ayala-Carcedo, F. J. y Olcina, J. (Coord) (2002). Riesgos naturales. Ariel. Barcelona, España. pp 210.
- Baas, W. J. (1985). Naturally occurring seco-A-triterpenoids and their possible biological significance. Phytochemistry. 24(9): 1875-1889.
- Balandrin, M. F. Klocke, J. A. Wurtele E. S. y Hugh, W. H. (1985). Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. Science. 228 (4704): 1154-1160
- Barbosa, J. M. Medeiros, K. C. Diniz, M. de F. Batista, L. M. Athayde-Filho, P. F. Silva, M. S. da-Cunha, E. V. Silva, J. R. y Quintans-Júnior, L. J. (2006). Natural

products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16(2): 258-285.

- Barreira, E. S. Queiroz Monte, F. J. y Braz-filho, R. (1996). A new furanosesquiterpene from *Bursera leptophloeos*. *Natural Products Research: Formely Natural Products Letters*. 8(4): 285-289.
- Becerra, J. X. (1997). Insects on plants: macroevolutionary chemical trends in host use. *Science*. 276(5310): 253-256.
- Becerra, J. X. (2003). Synchronous coadaptation in an ancient case of herbivory. *PNAS*. 100(22): 12804-12807.
- Becerra, J. X. (2007). The impact of herbivore-plant coevolution on plant community structure. *PNAS*. 104(18): 7483-7488.
- Becerra, J. X. y Lawrence, D. (1999). Macroevolution of insect-plant associations: The relevance of host biogeography to host affiliation. *PNAS* 96(22): 12626-12631.
- Becerra, J. X. Noge, K. y Venable, L. (2009) Macroevolutionary chemical escalation in an ancient plant-herbivore arms race. *PNAS*. 106(43): 18062-18066.
- Becerra, J. X. y Venable, L. (1990). Rapid-terpene-bath and “squir-gun” defense in *Bursera schlechtendalii* and the counterploy of *Chrysomelid* beetles. *Biotropica*. 22(3): 320-323.
- Becerra, J. X. Venable, D. Evans, P. y Bowers, W. (2001). Interactions between chemical and mechanical defenses in the plant genus *Bursera* and their implications for herbivores. *American Zoologist*. 41(4): 865-876
- Becerril, F. (2004). Morfología y anatomía del fruto de dos especies del género *Bursera* Jack. ex L. (Burseraceae). Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Estudios Superiores, Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Belles, X. Coord. (1988). Insecticidas biorracionales. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Colección Nuevas Tendencias Número 9. pp 409.
- Bentley, M. D. Leonard, D. E. y Bushway, R. J. (1984). *Solanum* alkaloids as larval feeding deterrents for spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 77(4): 401-403
- Bianchi, E. Caldwell, M. E. y Cole, J. R. (1968). Antitumor agents from *Bursera*

microphylla (Burseraceae) I. Isolation and characterization of deoxypodophyllotoxin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 57(4): 696-697.

- Blau, K. y Halket, J. Eds. (1993). *Handbook of derivatives for chromatography*. Second edition John Wiley & Sons. Chichester, U.K. pp 392.
- Bradley, C. E. y Haagen-Smit, A. J. (1951). The essential oil of *Bursera microphylla*. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 40(11): 591–592.
- Caballero, C. (2004). Efectos de terpenoides naturales y hemisintéticos sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera:Chrysomelidae) y *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Camporese, A. Balick, M. J. Esposito, R. G. Morsellino, N. De Simone, F. y Tubaro, A. (2003). Screening of anti bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central America). *Journal of Ethnopharmacology*. 87(1): 103-107.
- Carretero, M. Lopez-Perez, J. Abad, M. Bermejo, P. Tillet, S. Israel, A. y Nogera, P. (2008). Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract and fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 116(1):11-15.
- Casida, J. E. y Quistad, G. B. (1998). Golden age of insecticide research: past, present, or future?. *Annual Review of Entomology*. 43: 1-16.
- Casmuz, A. Juárez, M. L. Socías, M. G. Murúa, M. G. Prieto, S. Medina, S. Willink, E. y Gastaminza, G. 2010. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista de la Sociedad Entomologica Argentina*. 69(3-4): 209-231.
- Castro, O. Gutiérrez, J.M. Barrios, M. Castro, I. Romero, M. y Umaña, E. (1999). Neutralization of the hemorrhagic effect induced by *Bothrops asper* (Serpentes:Viperidae) venom with tropical plant extracts. *Revista de Biología Tropical*. 47(3): 605-16.
- Cepleanu, F. Hamburger, M. O. Sordat, B. Msonthi, J. D. Gupta, M. P. Saadou, M. y Hostettmann, K. (1994). Screening of tropical medicinal plants for molluscicidal, larvicidal and cytotoxic activities and brine shrimp toxicity. *Pharmaceutical Biology*. 32(3): 294-307.

- Cole, J. Bianchi, E. y Trumbull, E. (1969). Antitumor agents from *Bursera microphylla* (Burseraceae) II: Isolation of a new lignan-Burseran. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 58(2): 175-176.
- Cole, M. D. (1994). Key antifungal, antibacterial and anti-insect assays-a critical review. *Biochemical Systematics and Ecology* 22(8): 837-856.
- Coll, J. (1988). Hormonas juveniles, juvenoides y juvenógenos. pp. 87-112. En Bellés, X. (Coord). *Insecticidas Biorracionales*. CSIC, Madrid.
- Cortes, A. (1998). Biología reproductiva de *Bursera medranoana* Rzedowski & Ortiz (Burseraceae), una especie de origen híbrido. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Crowley, K. J. (1964). Some terpenic constituents of *Bursera graveolens* (H.B.K.) Tr. et Pl. var. villosula Cuatr. *Journal of the Chemical Society*. pp. 4254-4256.
- Cuatrecasas, J. (1957). Burseraceae. En *prima flora Colombiana*, 1. *Webbia*. 12: 375-441.
- Das, M. C. y Mahato, S. B. (1983). Triterpenoids. *Phytochemistry Reviews*. 22(5): 1071-1095.
- Day, K.E. y Scott, I. M. (1990). Use of acetylcholinesterase activity to detect sublethal toxicity in stream invertebrates exposed to low concentrations of organophosphate insecticides. *Aquatic Toxicology*. 18(2): 101-113.
- De la Cruz, M. y Dirzo, R. (1987). A Survey of the Standing Levels of Herbivory in Seedlings from a Mexican Rain Forest. *Biotropica*. 19(2): 98-106.
- Di Giovanni, S. Borloz, A. Urbain, A. Marston, A., K. Carrupt, P. y Reist, M. (2008). *In vitro* screening assays to identify natural or synthetic acetylcholinesterase inhibitors: Thin layer chromatography *versus* microplate methods. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 33(2): 109-119.
- Dicke, M. y Sabelis, M. (1988). Infochemical Terminology: Based on Cost-Benefit Analysis Rather than Origin of Compounds?. *Functional Ecology*. 2(2): 131-139.
- Doyle, J. y Hotton, C. (1991). Diversification of early angiosperm pollen in a cladistic context. En: Blackmore, S y S. Barnes. (Eds.) *Pollen and Spores*. Clarendon Press, Oxford, Inglaterra. pp 402
- Ellman, G. L. Courtney, D. Andres, V. Jr. y Featherstone, R. M. (1961). A new and

rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7:88-95.

- Escoubas, P. Fukushi, Y. Lajide, L. y Mizutani, J. (1992). A new method for fast isolation of insect antifeedant compounds from complex mixtures. *Journal of Chemical Ecology*. 18(10): 1819-1832.
- Escoubas, P. Lajide, L. y Mizutani, J. (1993). An improved leaf-disk antifeedant bioassay and its application for the screening of Hokkaido plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 66(2): 99–107.
- Espinosa, D. (2007). Catálogo de autoridades taxonómicas de la familia Burseraceae en México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Base de datos SNIB-CONABIO, proyecto BS001. México. pp 4.
- Evans, P. Becerra, J. Venable, D. y Boomers, W. (2000). Chemical analysis of squirt-gun defense in *Bursera* and counterdefense by *Chrysomelid* beetles. *Journal of Chemical Ecology*. 23(3): 745-754.
- Evans, P. y Becerra, J. (2006). Non-terpenoid essential oils from *Bursera chemapodicta*. *Flavour and Fragrance Journal*. 21:616-618.
- Farrar, R. (1989). Quantifying food consumption and growth in insects. *Annals of the Entomological Society of America*. 82(5): 593-598
- Foster, S. P., y Harris, M. O. (1997). Behavioral manipulation methods for insect pest-management. *Annual Review of Entomology*. 42(52): 123-146.
- Fournier, D. Marc Bride, J. Hoffmann, F. y Karch, F. (1992). Acetylcholinesterase. *Journal of Biological Chemistry*. 267(20): 14270-14274.
- Fraenkel, G. S. (1959). The raison d'Être of secondary Plant Substances. *Science*. 129 1466-1470.
- Gao, P. Xu, P. y Zhai, H. (2009). Expedient Construction of (+)-Mintlactone via intramolecular Hetero-Pauson-Khand Reaction. *Journal of Organic Chemistry*. 74(6): 2592-2593.
- George, J., H. P. Bais y Ravishankar G. A. (2000). Biotechnological production of plant based insecticides. *Critical Reviews in Biotechnology*. 20(1): 49-77.
- George, S. Bhalerao, S. Lidstone, E. Ahmad, I. Abbasi, A. Cunningham, B. y Watkin, K. (2010). Cytotoxicity screening of Bangladeshi medicinal plant extracts

- on pancreatic cancer cells. *BMC complementary and alternative medicine*. 10(52).
- Harborne, J. (1993). Introduction to ecological biochemistry. *Academic Press*. 4^a Edición. San Diego, California, USA.
 - Hernandez-Hernandez, J. D. Roman-Marin, L. U. Espiñeira, J. y Joseph-Nathan, P. (1983). Ariensin, a new lignan from *Bursera ariensis*. *Planta Medica*. 47(4): 215-217.
 - Hernandez-Hernandez, J. D. Román-Marín, L. U. Cerda-Garcia-Rojas, C. y Joseph-Nathan, P. (2005) Verticillane derivatives from *Bursera sintui* and *Bursera kerberi*. *Journal of Natural Products*. 68(11): 1598-602.
 - Houghton, P. J. Ren, Y. y Howes, M. J. (2006). Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*. 23(2): 181-199.
 - Howard, J. J. (1990). Infidelity of leafcutting ants to host plants: resource heterogeneity or defense induction?. *Oecologia*. 82(3): 394-401.
 - Huacuja R. L. Delgado, N. M. Carranco, L. A. Reyes, L. R. y Rosado, G. A. (1990). Agglutinating and immobilizing activity of an ethanol extract of *Bursera fagaroides* on human and other mammalian spermatozoa. *Archivos de Investigacion Médica (Mex)*. 21(4): 393-398.
 - Ionescu, F. Jolad, S.D. y Cole J. R. (1977). The structure of benullin, a new pentacyclic triterpene hemiketal isolated from *Bursera arida* (Burseraceae). *Journal of Organic Chemistry*. 42(9): 1627-1629.
 - Ishaaya, I. (Ed.). (2001). Biochemical sites of insecticide action and resistance. Springer. Berlin, Alemania. pp 360.
 - Isman, M. (2006). Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*. 51: 45-66.
 - Islam, M. A. y Becerra, J. X. (2011). Comparative analyses of chemical composition in the leaves of three *Bursera* species and their effect on insect pest. *Journal of Experimental Biosciences*. 2(2): 29-34.
 - Jauregui, X. Clavo, Z.M. Jovel, E.M. y Pardo-de-Santayana, M. (2011). Plantas con madre: Plants that teach and guide in the shamanic initiation process in the East-Central Peruvian Amazon. *Journal of Ethnopharmacology*. 134(3): 759-752.

- Jimenez-Díaz, M y Martínez-Monge, V. (2000). Validación de la determinación de acetilcolinesterasa eritrocítica humana a 340 nm. *Revista Biomédica*. 11(2): 161-168.
- Jolad, S. D. Wiedhorpf, R. M. y Cole, J. R. (1977a). Cytotoxic agents from *Bursera morelensis* (Burseraceae): Deoxypodophyllotoxin and a new lignan, 5'-desmethoxydeoxypodophyllotoxin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 66(6): 892-893.
- Jolad, S. D. Wiedhopf, R. M. y Cole, J. R. (1977b). Cytotoxic agents from *Bursera klugii* (Burseraceae) I: isolation of sapelins A and B. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 66(6): 889-890.
- Jones, P. S. Ley, S. V. Morgen, E. E. y Santafianos, D. (1989). The chemistry of the neem tree. pp. 19-45 en: *Focus of Phytochemicals-pesticides*, M. Jacobson (ed.), CRC Boca Raton, Fl. E.E. U.U.
- Junor, G. O. Porter, R. B. Facey, P. C. y Yee T. H. (2007). Investigation of essential oil extracts from four native jamaican species of *Bursera* for antibacterial activity. *West Indian Medical Journal*. 56(1): 22-25.
- Junor, G. Porter, R. Yee, T. y Waugh, T. (2010). The volatile constituents from the leaves, bark and fruits of *Bursera aromatica* (Proctor) found in Jamaica. *The Journal of Essential Oil Research*. 22(1): 19-22.
- Jutiviboonsuk, A. Zhang, H. Teng Tan, G. Ma, C. Van Hung, N. Manh Cuong, N. Bunyapraphatsara, N. Soejarto, D. y Fong, H. (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry*. 66(23): 2745-2751.
- Karlson, P. y Lüscher, M. (1959). 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*. 183: 55 - 56
- Khan, M. T. Orhan, I. Senol, F. S. Kartal, M. Sener, B. Dvorská, M. Šmejkal, K., y Šlapetová, T. (2009). Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chemico-biological interactions*, 181(3): 383-389.
- Knipling, E.F. (1980). Regional management of the fal armyworm a realistic approach? *The Florida Entomologist*. 63(4) 462-480.
- Koul, O. (2005). *Insect antifeedants*. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.

- Kubo, I. (1991). Screening techniques for plant-insect interactions. In: Methods in plant biochemistry Vol. 6.. London. Academic Press. Reino Unido. pp 179-193.
- Kubo, I. (1993). Insect control agents from tropical plants. In: Recent Advances in Phytochemistry, Phytochemical Potential of Tropical Plants. New York, Plenum Press E.E: U.U. pp 310-326.
- Langenheim, J. (2003). Plants resins: chemistry, evolution, ecology and ethnobotany. Timber Press. Portland Oregon, USA. pp 586
- Law, J y Regnier, F. (1971). Pheromones. Annual Review of Biochemistry. 40: 533-548.
- Lawrence, P. K. y Koundal, K. R. (2002). Plant protease inhibitors in control of phytophagus insects. Electronic Journal of Biotechnology. 5(1) 1-17.
- Liu, Y. Alford, R. Rajab, M. y Bentley, M. (1990). Effects and modes of action of citrus limonoids against *Leptinotarsa decemlineata*. Physiological Entomology. 15(1): 37-45
- López, M. D. y Pascual-Villalobos, M. J. (2010). Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. Industrial Crops and Products. 31(2): 284-288.
- López-Aroche, U. Salinas-Sánchez, D. Mendoza de Gives, P. López-Arellano, M. Liébano-Hernández, E. Valladares-Cisneros, G. Arias-Ataide, D. y Hernández-Velázquez, V. (2008). *In vitro* nematicidal effects of medicinal plants from the Sierra de Huautla, Biosphere Reserve, Morelos, Mexico against *Haemonchus contortus* infective larvae. Journal of Helminthology. 82(1): 25-31.
- López-Olguín, J. (1998). Actividad de productos de *Trichilia havanensis* (Jacq.) y *Scutellaria alpina* subesp. *javallambresis* (Pau) sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) y *Spodoptera exigua* (Hübner). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. España.
- Luna, J. Dos Santos, A. Lima, M. Omena, M. Mendonça, F. Bieber, L. y Sant'Ana, A. (2005). A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. Journal of Ethnopharmacology. 97(2): 199-206.
- Maldini, M. Montoro, P. Piacente, S. y Pizza, C. (2009). Phenolic compounds from *Bursera simaruba* Sarg. Bark: Phytochemical investigation and quantitative analysis

by tandem mass spectrometry. *Phytochemistry* 70(5): 641-649.

- McDoniel, P. B. y Cole, J. R. (1972). Antitumor activity of *Bursera schlechtendalii* (Burseraceae): Isolation and structure determination of two new lignans. *Journal of Farmaceutical Sciences*. 61(12): 1992-1994.
- McLaren, J. S. (1986). Biologically active substances from higher plants: status and future potential. *Pesticide Science*. 17(5): 559-578.
- McVaugh, R y Rzedowski, J. (1965). Synopsis of the genus *Bursera* I. In western Mexico with notes on the material of *Bursera* collected by Sessé y Mosiño. *Kew Bulletin*. 18:317-382.
- Meshram, P. B. (2000). Antifeedant and insecticidal activity of some medicinal plant extracts against *Dalbergia sissoo* defoliator *Plecoptera reflexa* Gue. (Lepidoptera: Noctuidae). *Indian Forester*. 16 (9): 961-965.
- Miranda, F. (1947). Estudios sobre la vegetación de México V. Rasgos de la vegetación en la cuenca del Río de las Balsas. *Revista de la. Sociedad. Mexicana de. Historia. Natural*. 8(1-4): 95-114.
- Mitchell, E. R. McNeil, J. N. Westbrook, J. K. Silvain, J. F. Lalanne-Cassou, B. Chalfant, R. B. Pair, S. D. Waddill, V. H. Sotomayor-Rios , A. y Proshold, F. I. (1991). Seasonal periodicity of fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae) in the Caribbean Basin and Northward to Canada. *Journal of Economic Entomology*. 26(1): 39-50.
- Miyazawa, M. Kakiuchi, A. Watanabe, H. y Kameoka, H. (1998). Inhibition of acetylcholinesterase activity by volatile α , β -unsaturated ketones. *Natural. Products Letters*. 12(2): 131-134.
- Moreno, J. Aparicio, R. Velasco, J. Rojas, L. B. Usubillaga, A. y Lue-Merú, M. (2010). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from fruits of *Bursera tomentosa*. *Natural Products Communications*. 5(2):311-313.
- Neyra, L. y Duran, L. (1998). Biodiversidad, en *La diversidad biológica de México: Estudio de País*. CONABIO, pp. 82.
- Newman, A. (1995). Ranking pesticides by environmental impact. *Environmental Science Technology*. 29(7): 324A-326A.
- Noge, K. y Becerra, J. X. (2009). Germacrene D, A Common Sesquiterpene in the

Genus *Bursera* (Burseraceae). *Molecules*. 14(12): 5289-5297.

- Pair, S. D. y Sparks, A. N. (1986). Evidence of annual long-distance migration by the fall armyworm. En: Sparks, A. N. (ed.), Long-range migration of moths of agronomic importance to the United States and Canada: specific examples of occurrence and synoptic weather patterns conducive to migration, United States Department of Agriculture, Florida, pp. 25-33.
- Pair, S. D. Raulston, J. K. Westbrook, J. K. Wolf, W. W. y Adams, S. D: (1991). Fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) outbreak originating in the lower Rio Grande valley, 1989. *Florida Entomologist*. 74(2): 237-245.
- Pelter, A. Ward, R. S. Satyanarayana, P. y Collins, P. (1983). Synthesis of lignan lactones by conjugate addition of thioacetal carbanions to butenolide. *Jornal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. 643-647.
- Peraza-Sánchez, S. y Peña-Rodríguez, L. (1992). Isolation of picropolygamain from the resin of *Bursera simaruba*. *Journal of Natural Products*. 55(12): 1768-1771.
- Peraza-Sánchez, S. Salazar-Aguilar, N. y Peña-Rodríguez, L. (1995). A new triterpene from the resin of *Bursera simaruba*. *Journal of Natural Products*. 58(2): 271-274.
- Perez, R. M. (2003). Antiviral activity of compounds isolated from plants. *Pharmaceutical Biology*. 41(2): 107-157.
- Peters, C. Purata, S. Chibnik, M. Brosi, B. Lopez, A. y Ambrosio, M. (2003). The life and times of *Bursera glabrifolia* (H.B.K.) Engl. in Mexico: A parable for ethnobotany. *Economic Botany*. 57(4): 431-441.
- Pimentel, D. Acquay, H. Biltonen, M. Rice, P. Silva, M. Nelson, J. Lipner, V. Giordano, S. Horowitz, A. y D'Amore, M. (1992). Environmental and economic cost of pesticide use. *BioScience*. 42(10) 750-760.
- Pingali, P. L. y Roger, P. A. (Eds.). (1995). Impact of pesticides on farmer health and rice environment. Kluwer Academic Publishers. E.E. U.U. pp 688.
- Pogue, M. G. (2002). A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society*. 43:1-202.
- Pradhan, S. Jotwani, M. y Rai, B. (1962). The neem seed deterrent to locusts. *Indian*

Farming 12: 7-11

- Pretty, J. (Ed.) (2005). The Earthscan reader in sustainable agriculture. Earthscan. Earthscan. Reino Unido. pp 407.
- Rahalison, L. Hamburger, M. Hostettmann, K. Monod, M. Frenk, E. Gupta, M. P. Santana, A. I. Correa, M. D. y Gonzales, A. G. (1993). Screening for antifungal activity of panamian plants. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 31(1) 68-76.
- Ramawat, K. G. y Mérillon, J. M. (Eds.) 2007. Biotechnology. Secondary metabolites. Segunda edición. Enfield: science. pp 565.
- Reynoso-Orozco, R. Delgado-Saucedo, J. Puebla-Perez, A. Calvo-Mendez, C. Carr, D. Velazquez-Magaña, S y Santerre, A. (2008). Difluorometil ornitina y el extracto acuoso de *Bursera fagaroides* en el modelo de linfoma murino L5178Y en ratones BALB/C: comparacion de su efecto en el metabolismo de poliaminas. Revista de Salud Animal. 30(2): 128-132.
- Robles, J. E. Téllez Alfonso, A. N. Rojas-Rozo, R. A. de Castro, C. y Riveros de Murcia, T. (2010). Efectos citotoxicos *in vitro* de extractos y fracciones de *Bursera tomentosa* (Jacq.) Triana & Planch., Burseraceae, frente a líneas celulares tumorales humanos. Revista Brasileira de Farmacognosia 20(4): 588-593.
- Robles, J. Torrenegra, R. Gray, A. Piñeros, C. Ortiz, L. y Sierra, M. (2005). Triterpenos aislados de corteza de *Bursera graveolens* (Burseraceae) y su actividad biológica. Revista Brasileira de Farmacognosia. 15(4): 283-286.
- Rodríguez, C. (2003). Cuantificación de la inhibición de crecimiento en insectos, provocada por sustancias naturales. En: Agricultura, ambiente y desarrollo sustentable. Publicación Especial, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla. México.
- Rojas, F. (2006). Árboles que curan: indio desnudo. Kurú: Revista Forestal. (Costa Rica). 3(9)
- Rosado-Aguilar, J. Aguilar-Caballero, A. Rodríguez-Vivas, R. Borges-Argaez, R. García-Vázquez, Z. y Méndez-González, M. (2010). Screening of the acaricidal efficacy of phytochemical extracts on the cattle tick *Rhipicephalus (boophilus) microplus* (Acari: ixodidae) by larval immersion test. Tropical and Subtropical

Agroecosystems, 12(2): 417 – 422.

- Ryan, M. F. y Byrne, O. (1988). Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology*. 14:1965-1975.
- Rzedowski, J. y Guevara-Fefer, F. (1992). Familia Burseraceae. Fascículo 3. Flora del Bajío y Regiones Adyacentes. Instituto de Ecología A. C. Pátzcuaro, Mich. México. pp 46.
- Rzedowski, J. Medina, R. y Calderón de Rzedowski, G. (2005). Inventario del conocimiento taxonómico, así como de la diversidad y del endemismo regionales de las especies mexicanas de *Bursera* (Burseraceae). *Acta Botánica Mexicana*. 70: 85-111
- Rzedowski, J. y Kruse, H. (1979). Algunas tendencias evolutivas en *Bursera* (Burseraceae). *Taxon* 28:103-116.
- Salgado López, A. (2009). Aislamiento de los productos antialimentarios contra *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) de las semillas de *Bursera grandifolia* (Engl.). Tesis de licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México
- Salinas, D. Arteaga, G. León, I. Dorado, O. Valladares, M. y Navarro, V. (2009). Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra Biosphere Reserve in Morelos (Mexico). *Polibotanica*. 28: 213-225.
- Seigler, D. y Peter, P. W. (1976). Secondary compounds in plants: primary functions. *The American naturalist* 110(971): 101-106.
- Sezer, F. Orhan, I. Celep, F. Kahraman, A. Dogan, M. Yilaz, G. y Şener, B. (2010). Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chemistry*. 120(1): 34-43.
- Skinner, J. A. Lewis, K. A. Bardon, K.S. Tucker, P. Catt, J. A. y Chambers, B. J. (1996) An overview of the environmental impact of agriculture in the U.K. *Journal of Environmental Management*. 50(2) 111-128.
- Souza, M. P. Machado, M. I. L. y Braz-Filho, R. (1989). Six flavonoids from *Bursera leptophloeos*. *Phytochemistry*. 28(9): 2467-2470.
- Sparks, A. N. (1979). A review of the biology of the fall armyworm. *The Florida Entomologist*. 62(2): 82–87.

- Swart, J. (1942a). Flora of Suriname (Netherland Guyana). Vol. III. Part-2, Edited by The Institute; Printed by J H Bussy. pp 204-251.
- Swart, J. (1942b). A monograph of the genus *Protium* and some allied genera (Burseraceae). Drukkerij Koch en Knuttel, University of California. CA. E.E. U.U.
- Syamasundar, K. V. y Mallavarapu, G. R. (1995). Two triterpenoid lactones from the resin of *Bursera delpechiana*. *Phytochemistry*. 40(1): 337-339.
- Syamasundar, K. V. Mallavarapu, G. R. y Krishna, M. E. (1991). Triterpenoids of the resin of *Bursera delpechiana*. *Phytochemistry*. 30(1): 362-363.
- Toledo Manzur, C. (1982). El género *Bursera* (Burseraceae) en Guerrero (México). Tesis de licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autonoma de México. México.
- Tursch, B. (1961). Triterpènes du latex de *Bursera*. *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*. 70 (9-10): 585–591.
- Van der Werf, H. (1996). Assessing the impact of pesticides on environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 60(2-3) 81-96.
- Velazquez, F. Manríquez, R. Maya, L. Barrienteos, L. y López-Dellmary, F. (2009). Phenacetin isolated from *Bursera grandifolia*, a herbal remedy with antipyretic properties. *Natural Product Communications*. 4(11): 1575-1576.
- Villers-Ruiz, L. y Trejo-Vázquez, I. (1998). Impacto del cambio climático en los bosques y aéreas naturales protegidas de México. *Interciencia*. 23(1): 10-19.
- Völlinger, M. (1995). Studies of the probability of development of resistance of *Plutella xylostella* to neem products. In: *The neem tree: Source of unique natural products for integrated pest management, medicine industry and other purposes*. VCH Weinheim. Alemania. pp 477-483.
- Wagner, H. y Blatt, S. (1996). *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. Springer, Second Edition. Germany. pp 384.
- Waksmdzka-Hajnos, M. Sherma, J. y Kowalska, T. Eds. (2008) *Chromatographic science series, Vol 99. Thin layer chromatography in phytochemistry*. CRC Press. Florida, E.E. U.U. pp 874.
- Waldbauer, G. P. (1968). The consumption and utilization of food by insects. *Advances in Insect Physiology*. 5:229-288.

- Wang, Y. Su, X. Li, L. Wang, W. Zhang, M. Huo, C. y Shi, Q. (2009). Verticillane derivatives from natural sources. *Chemistry & Biodiversity*. 6(10): 1661-1673.
- Ward, D. (2008). *The biology of deserts*. Oxford University Press. Reino Unido. pp 304.
- Wheeler, D. y Isman, M. (2001). Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 98(1): 9-16.
- Whittaker, R. y Feeny, P. (1971). Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*. 171(973):757-770.
- Wickramaratne, D. B. M. Mar, W. Chai, H. Castillo, J. J. Farnsworth, N. R. Soejarto, D. D. Cordell, G. A. Pezzuto, J. M. y Kinghorn, A. D. (1995). Cytotoxic constituents of *Bursera peruviana*. *Planta Medica* 61(1): 80-81.
- Willink, E. Osorio, V. M. y Costilla, M. A. (1993). Daños, pérdidas y niveles de daño económico por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz. *Revista Industrial y agrícola de Tucumán*. 70: 49-52.
- Yukawa, C. Iwabuchi, H. Kamikawa, T. Komemushi, S. y Sawabe, A. (2004). Terpenoids of the volatile oil of *Bursera graveolens*. *Flavour and Fragrance Journal*. 19(6): 565-570.
- Yukawa, C. Iwabuchi, H. Komemushi, S. y Sawabe, A. (2005). Mono and sesquiterpenoids of the volatile oil from *Bursera graveolens*. *Flavour and Fragrance Journal*. 20(6): 653-658.
- Zúñiga, B. (2005). Actividad biológica de especies del género *Bursera* frente al desarrollo de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera:Noctuidae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México.