

ACTIVIDAD INSECTICIDA Y JUVENOMIMÉTICA DE *Salvia connivens* (Epling, 1939) sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)

Daniel Zamora-Avella¹✉, Miguel Ángel Ramos-López¹, Marco Martín González-Chávez², Mamadou Moustapha-Bah¹, Juan Campos-Guillen¹ y Víctor Pérez-Moreno¹

¹ Universidad Autónoma de Querétaro. Cerro de las Campanas s/n, Centro Universitario, Santiago de Querétaro, Qro. México C.P. 76010

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Álvaro Obregón No 64, Col. Centro, San Luis Potosí, S.L.P. México C.P. 78000

✉ Autor de correspondencia: daniel.zamora-avella@hotmail.com

RESUMEN. Se evaluó la actividad juvenomimética e insecticida del aceite esencial de *Salvia connivens* (Lamiales: Lamiaceae) en el ciclo de vida del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*; Lepidoptera Noctuidae). Los resultados obtenidos demostraron actividad insecticida acumulada de 40 y 60 % a 600 y 1000 ppm respectivamente. La concentración letal media acumulada CL₅₀ corresponde a 815.21 ppm. La actividad juvenomimética mostró un incremento en la duración larval de 5.31, 4.61, 3.21, 4.06 días comparado con el control negativo a concentraciones de 120, 400, 600 y 1000 ppm, a los diez días se tuvo una reducción en el peso larval de 11.5, 14.6, 11.35, 13.15 mg comparado con el control negativo a concentraciones de 120, 400, 600 y 1000 ppm. A los 20 días se tuvo una reducción del peso larval fue de 217.5, 213.7, 196, 205.5 mg comparado con el control negativo a concentraciones de 120, 400, 600 y 1000 ppm.

Palabras clave: aceites esenciales, *Spodoptera frugiperda*, juvenomiméticas.

Insecticide and juvenomimetic activity of *Salvia connivens* (Epling, 1939) on *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)

ABSTRACT. The insecticidal and juvenomimetic activities of the essential oil of *Salvia connivens* (Lamiales: Lamiaceae) was evaluated in the life cycle of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*, Lepidoptera Noctuidae). The results obtained showed cumulative insecticidal activity at 40 and 60 % at 600 and 1000 ppm respectively. The cumulative lethal concentration fifty LC₅₀ corresponds to 815.21 ppm. The juvenomimetic activity showed an increase of the larval duration of 5.31, 4.61, 3.21, 4.06 days compared to the negative control at concentrations of 120, 400, 600 and 1000 ppm, after ten days there was a larval weight reduction in the larval weight of 11.5, 14.6, 11.35, 13.15 mg compared to the negative control at concentrations of 120, 400, 600 and 1000 ppm. At 20 days there was a larval weight reduction was 217.5, 213.7, 196, 205.5 mg compared to the negative control at concentrations of 120, 400, 600 and 1000 ppm.

Keywords: Essential oils, *Spodoptera frugiperda*.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del maíz *Zea mays* (Linnaeus, 1753) (Poaceae) se ve afectado por diversos artrópodos entre otros, entre los cuales destaca el gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*; Lepidoptera Noctuidae) en la mayor parte del territorio nacional, el cual ha causado pérdidas hasta de un 50 % de la cosecha (Blanco *et al.*, 2014). El gusano cogollero del maíz es una especie polífaga, se extiende desde Chile hasta el sur de los Estados Unidos, se alimenta de hojas jóvenes, especialmente de los cogollos (Capinera, 2005). Es huésped de diversos cultivos como el sorgo, el maíz, algodón, soja, girasol, entre otros (Sosa, 2004).

Para lidiar con esta problemática se ha optado principalmente por la utilización de insecticidas organosintéticos para su control (Blanco *et al.*, 2014). Sin embargo, el uso indiscriminado de

estos compuestos es causante de contaminación ambiental, riesgos a la salud humana y propician la generación de resistencia de *S. frugiperda* a los componentes activos de estos productos químicos (Celis *et al.*, 2008). Por tal motivo, se están desarrollando alternativas para su control, como el uso de compuestos botánicos. Hasta la década de los 60's se empezó a estudiar el uso de propiedades insecticidas de las plantas, encontrando que algunas de ellas tienen compuestos con efectos tóxicos y sirven para el manejo de plagas (Negrete-Barón *et al.*, 2003).

Dichas propiedades son debido a sustancias denominados metabolitos secundarios, los cuales son sintetizados por las plantas debido a la necesidad de adaptarse a su medio y tener mayores posibilidades de supervivencia (Domínguez-Gento, 2011). Hay estudios donde se encontró que algunos géneros de especies vegetales producen aceites esenciales que presentan actividad insecticida y juvenomimética, y por lo tanto son prospectos a ser utilizados como agentes de control de plagas, entiéndase como actividad insecticida aquella que provoca la muerte del insecto, mientras que juvenomimética es aquella que interfiere con el desarrollo juvenil del insecto, modificando duración larval, pupal, peso larval y pupal, entre otros.

Romeu-Carballo y Veitía-Rubio (2012) probaron la actividad antialimentaria de los aceites esenciales de *Plecthanthus amboinicus* y *Mentha spicata* sobre *Spodoptera frugiperda*. Knaak *et al.* (2013), realizaron pruebas con aceites esenciales de diferentes géneros de especies vegetales contra *S. frugiperda* (Lepidoptera Noctuidae), los aceites esenciales que probaron fueron: *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Artemisia absinthium*, *Ruta graveolens*, *Malva* sp. y *Mentha* sp. El objetivo del presente estudio fue determinar la actividad insecticida y juvenomimética del aceite esencial de *Salvia connivens* (conocida como: charahuesca, ichukuta ó azul-sipari) sobre *S. frugiperda*.

MATERIALES Y MÉTODO

Material vegetal. Se recolectaron las partes aéreas de *S. connivens* (hoja, tallo y flor) en septiembre de 2017 en el municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí, México, el cual se localiza entre las coordenadas 22° 37' 11" N, y 100° 24' 20" O; a una altitud promedio de 1,640 msnm. Se recolectaron 6 kg de materia vegetal.

Obtención del aceite esencial. Se utilizó la técnica de hidrodestilación (Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2012; Knaak *et al.*, 2013), colocando 300 g de material vegetal limpio y cortado en trozos pequeños para romper la cutícula de las glándulas de la planta para facilitar la liberación de los aceites esenciales, y 1.5 L de agua destilada (Palá-Paúl *et al.*, 2002). El agua floral obtenida fue tratada con éter etílico, la fase orgánica se separó por destilación en un evaporador rotatorio a 18 °C. El aceite esencial que se obtuvo fue deshidratado con sulfato de sodio anhidro (Cárdenas-Ortega *et al.*, 2015).

Insectos Se obtuvieron las larvas de *S. frugiperda* del Centro de Innovación de Agricultura Sostenible en Pequeña Escala (CIASPE), ubicado en la Carretera a los Cues, municipio de El Marqués, Querétaro. Durante todos los estadios larvales se les proporcionó dieta artificial siguiendo la metodología de Bergvinson y Kumar (1997) y adaptada por Ramos-López *et al.*, (2010).

Bioensayo. Antes de realizar el bioensayo definitivo, se probó el aceite esencial a diferentes concentraciones logarítmicas (0.1, 1, 10, 100, 1000 ppm), más un control negativo (sólo dieta) para determinar la actividad biológica y las concentraciones finales para montar el bioensayo (Zavala-Sánchez *et al.*, 2013). Las concentraciones finales resultantes fueron 0, 80, 120, 400, 600 y 1000 ppm; se siguió la metodología propuesta por Ramos-López *et al.*, 2010. Las concentraciones para cada tratamiento se prepararon con la dieta artificial propuesta por

Bergvinson y Kumar (1997) con el agregado de aceite esencial correspondiente para cada concentración; en vasos de plástico de la marca PRIMO No 0 con tapa ajustable se colocaron un cubo de dieta por cada vaso, formando tratamientos de 20 repeticiones, los cuales se distribuyeron de manera aleatoria en una cámara bioclimática para guardar condiciones de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, y humedad relativa de $70 \pm 5 \%$, con un fotoperiodo de luz claro / oscura de 14 / 10 (Ramos- López *et al.*, 2010). Las larvas fueron revisadas de manera continua y se tomaron los pesajes de las mismas a los 10 y 20 días, así como el peso de la pupa 24 h después de su formación. Las variables se evaluaron son: mortalidad larval y pupal, duración larval y pupal y el peso de la pupa 24 h después de su formación.

Análisis estadístico. Los datos se analizaron con pruebas no paramétricas para determinar la normalidad y la homocedasticidad, posteriormente se realizó un análisis de varianza de una vía y una prueba de ajuste de medias de Tukey con un nivel de significación de 0.05. La concentración letal media se determinó con el paquete estadístico SYSTAT.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento obtenido de aceite esencial de *S. connivens* fue de 0.32 %, no se cuenta hasta el momento con ninguna referencia bibliográfica de esta especie para comparar el rendimiento obtenido. Sin embargo Cárdenas- Ortega *et al.* (2015) obtuvieron un rendimiento de 0.47 % para el aceite esencial de *S. ballotiflora*. Esta variación puede deberse primeramente a la diferencia entre especies, al método de extracción de los aceites esenciales, al tamaño de corte de las partes aéreas de la planta, a la salud de la planta recolectada (condiciones de estrés) así como a las condiciones climáticas al momento de la recolección.

En el cuadro 1 se presentan los porcentajes de mortalidad larval, pupal y acumulada con su respectivo error estándar. Se aplicó la prueba de medias de Tukey para determinar la existencia de diferencias significativas entre tratamientos considerando un control positivo y uno negativo. La mortalidad larval presenta una tendencia creciente a medida que se incrementa la concentración entre tratamientos, la cual se hace más acentuada a partir de la concentración de 600 ppm, a las cuales se obtuvo una mortalidad de 40 %, mientras que a 1000 ppm se obtuvo 45 % de mortalidad. Sin embargo, a una concentración de 120 ppm se obtuvo 5 % de mortalidad, este efecto puede atribuirse a la resistencia del grupo de larvas seleccionadas para este tratamiento. La prueba de Tukey nos muestra que no hay diferencia significativa con respecto al control negativo, excepto en el tratamiento de 1000 ppm con un 45% de mortalidad larval. Mediante el uso de la regresión PROBIT se calculó la concentración letal media (CL_{50}), que corresponde a la requerida para eliminar el 50 % de los individuos en estudio, así como los índices fiduciaros que son el rango de Valores mínimos y máximos donde se puede tener la misma respuesta de la concentración letal media). Martínez- González *et al.* 2014 probaron el aceite esencial de *S. ballotiflora* sobre *S. frugiperda*, obteniendo una mortalidad larval de 80 %, 90 %, 90 %, 95 % y 100 % a 80 ppm, 120 ppm, 400 ppm, 600 ppm y 1000 ppm, respectivamente. Esto se debe a que uno de los componentes principales del aceite esencial de *S. ballotiflora* es el óxido de cariofileno (15.97 %) el cual ha demostrado tener propiedades insecticidas.

El aceite esencial de *S. connivens* por otra parte, no evidenció tener un efecto pupicida sobre *S. frugiperda*, ya que la mortalidad pupal no presentó una tendencia definida, manteniéndose sin diferir significativamente entre los tratamientos así como en el control. Comparando con los resultados obtenidos por Martínez- González *et al.* 2014, podemos observar que el aceite esencial de *S. ballotiflora*, presenta actividad pupicida contra *S. frugiperda* con tendencia ascendente que va de 90, 90, 95, 100 y 100 % a 80, 120, 400, 600 y 1000 ppm, respectivamente. Podemos concluir que el aceite esencial de *S. connivens* tiene baja actividad pupicida.

El porcentaje de mortalidad total acumulada presenta una tendencia claramente ascendente a medida que se incrementa la concentración entre tratamientos, la cual se hace más acentuada a partir de la concentración de 600 ppm, alcanzando un 40 % de mortalidad y un 60 % a 1000 ppm. Sin embargo, a una concentración de 80 ppm se observó un bajo porcentaje de mortalidad total de 15 %, este efecto puede atribuirse a la susceptibilidad del grupo de larvas seleccionadas. La prueba de Tukey nos muestra que no hay diferencia significativa con respecto al control negativo.

Cuadro 1. Actividad insecticida de *Salvia connivens* vs. *Spodoptera frugiperda*.

Trat. ppm	% Mor. larval	% Mor. pupal	% Mor. acum
1000	45 ± 11.4 ab	15 ± 8.19 a	60 ± 11.2 ab
600	40 ± 11.2 abc	0 ± 0 a	40 ± 11.2 abc
400	15 ± 8.19 bc	5 ± 5 a	20 ± 9.18 bc
120	5 ± 5 c	15 ± 8.19 a	20 ± 9.18 bc
80	10 ± 6.88 bc	5 ± 5 a	15 ± 8.19 c
C -	5 ± 5 c	15 ± 8.19 a	20 ± 9.18 bc
C+	65 ± 10.9 a	5 ± 5 a	70 ± 10.5 a
	$P < 0.001$	$P = 0.514$	
CL ₅₀ =	981.33 (760.95-1509.11)		815.21 (596.7-1373.13)

Resultados promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. $P < 0.001$. CL₅₀=Concentración letal media. C- = control negativo. C+ = control positivo. Letras iguales representan tratamientos sin diferencias significativas.

El cuadro 2 muestra las variables consideradas para evaluar el efecto juvenomimético del aceite esencial de *S. connivens*, la duración larval (tiempo que tarda una larva en pasar por los estadios para llegar a convertirse en pupa, comparado con un grupo control) tuvo una tendencia ascendente a medida que se incrementa la concentración en cada tratamiento, a partir de la concentración de 120 ppm, todos los tratamientos muestran diferencias significativas con respecto el control negativo.

Cuadro 2. Variables determinantes de actividad juvenomimética de *Salvia connivens* vs *Spodoptera frugiperda*

Trat. ppm	Dur. larval	Dur. pupal	Peso 10 días	Peso 20 días	Peso pupal
1000	32.27 ± 0.87 b	15.12 ± 0.58 a	4.05 ± 0.70 b	134.8 ± 17.5 b	227.9 ± 7.49 a
600	33.42 ± 1.85 b	15.27 ± 0.35 a	5.85 ± 1.93 b	144.3 ± 30.2 b	235.1 ± 7.40 a
400	32.82 ± 0.78 b	16.63 ± 1.93 a	2.60 ± 0.48 b	126.3 ± 15.9 bc	233.3 ± 6.54 a
120	33.52 ± 0.99 b	14.66 ± 0.32 a	6.15 ± 1.41 b	122.8 ± 21.1 bc	222 ± 9.0 a
80	24.94 ± 0.59 d	15.17 ± 0.35 a	23.70 ± 4.86 a	404.7 ± 23 a	222.7 ± 5.0 a
C-	28.21 ± 0.52 cd	16.13 ± 1.17 a	17.2 ± 1.61 a	340.3 ± 26 a	225.4 ± 6.3 a
C+	40.67 ± 3.15 a	16.20 ± 1.50 a	2.20 ± 0.46 b	44 ± 10 c	233.7 ± 17.3 a
	$P < 0.001$	$P = 0.831$	$P < 0.001$	$P < 0.001$	$P = 0.71$

Resultados promedio de 20 determinaciones ± error estándar de la media. $P < 0.001$. CL₅₀. C- = control negativo. C+ = control positivo. Letras iguales representan tratamientos sin diferencias significativas.

La duración pupal, (tiempo que tarda en fase pupal, para emerger como adulto) no varía significativamente entre tratamientos así como tampoco comparado con los controles, lo que nos confirma que aparentemente no tiene un efecto inhibitorio del desarrollo. Para el peso larval a los

10 y 20 días, podemos observar que el control negativo y el tratamiento de 80 ppm no presentan diferencias significativas entre ellos, sin embargo si las hay con respecto los demás tratamientos, lo cual nos dice que tiene un efecto inhibitorio del crecimiento a partir de una concentración de 120 ppm. Los grupos de larvas de los tratamientos presentaron el mismo comportamiento al pesaje de los 10 y 20 días. El peso pupal tomado a las 24 h después de su formación, no mostró diferencias significativas entre tratamientos así como tampoco comparado con los controles. El aceite esencial de *S. connivens* no presenta efectos inhibitorios de la alimentación sobre los individuos.

Los resultados presentados en este estudio son similares a los reportados por Martínez-González *et al.* (2014), quienes reportan actividad juvenomimética sobre *S. frugiperda* utilizando aceite esencial de *S. ballotiflora*. La duración del estado larval es mayor conforme se incrementa la concentración del aceite esencial. Reportan duración del estado larval de 32, 32, 34.5 y 57 días con tratamientos de 80, 120, 400 y 600 ppm, respectivamente.

CONCLUSIÓN

El aceite esencial de *S. connivens* tiene gran potencial para ser utilizado como alternativa en el manejo de *S. frugiperda*, ya que presentó propiedades juvenomiméticas influyendo en la duración larval principalmente. Sin embargo, debe combinarse con otro método de control debido a su bajo efecto insecticida contra dicho insecto plaga.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT por brindarme el sustento económico que me permitió terminar con este proyecto. A mi familia por apoyarme incondicionalmente y por confiar en mí. A la Universidad Autónoma de Querétaro y en especial al equipo de trabajo del laboratorio de compuestos naturales e insecticidas por el apoyo incondicional. A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí en especial al equipo de trabajo del laboratorio de Síntesis Orgánica, por permitirme usar sus instalaciones y equipos para la obtención del aceite esencial. Al FOFIUAQ por el apoyo brindado para el desarrollo y conclusión del proyecto. Que le fue asignado el número de registro FCQ-2016-14.

LITERATURA CITADA

- Bergvinson D.J., y H. Kumar, 1997. Cría masiva de insectos en el laboratorio de entomología del CIMMyT (*Diatraea grandiosella*, SWCB; *D. saccharalis*, SBC; *Spodoptera frugiperda*, FAW y *Helicoverpa zea*, CEW). In: Annual Research Progress Report 1996, Maize Entomology. CIMMyT, México. Apéndice 7.
- Blanco C. A., Pellegaud G., Nava-Camberos U., Lugo-Barrera D., Vega-Aquino P. Coello J., Terán-Vargas A. P. y J. Vargas-Camplis. 2014. Maize Pests in Mexico and Challenges for the Adoption of Integrated Pest Management Programs. *Journal of Integrated Pest Management*, 4 (5): 1-9.
- Cárdenas-Ortega N. C., González-Chávez M. M., Figueroa-Brito R., Flores-Macías A., Romo-Asunción D., Martínez-González D. E., Pérez-Moreno V., Ramos-López M. A. 2015. Composition of the Essential Oil of *Salvia ballotiflora* (Lamiaceae) and Its Insecticidal Activity. *Molecules*, 20: 8048-8059.
- Capinera J. 2005. Fall armyworm. *Spodoptera frugiperda*. University of Florida. Magazine Featured creatures, Entomology & Nematology. http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall_armyworm.htm

- Celis A., Mendoza C., Pachón M., Cardona J., Delgado W. y E. Cuca L. 2008. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia *Piperaceae*. *Agronomía Colombiana*, 26 (1): 97-106.
- Domínguez-Gento A. 2011. Etnobotánica aplicada: Extractos naturales utilizados en agricultura ecológica. Estación Experimental Agraria de Carcaixent. 1-17. [Consultada el 2016, 14, 11]. Disponible en: [http://www.alcoi.org/export/sites/default/es/areas/medi_ambient/cimal/descargas/ETNOBOTANICA-APLICADA.pdf]
- Knaak N., Wiest S., F T., M- Fiuza A. y L. M-Fiuza. 2013. Toxicity of essential oils to the larvae of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Biopesticides*, 6(1): 49-53.
- Martínez-González D. E., Ramos-López M. A., Flores-Macías A. y R. Figueroa-Brito. 2014. Actividad insecticida e insectistática de *Salvia ballotiflora* y *Salvia connivens* (Lamiaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Tesis de Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana. México: 107 pp.
- Negrete-Barón, Morales-Angulo F. y J. Morales-Angulo. 2003. El gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*). Centro de Investigación Turipaná. Primera edición. 26 pp.
- Palá-Paúl J., Pérez-Alonso M. J. y A. Velasco-Negueruela. 2002. Contribución al Conocimiento de los Aceites Esenciales del Género “*Eryngium*”, en la Península Ibérica. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Biológicas. 269 pp.
- Ramos-López M. A., Pérez-G. S., Rodríguez-Hernández C., Guevara-Fefer P., Zavala-Sánchez M. A. 2010. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology*, 9(9): 1359-1365.
- Rodríguez-Álvarez M., Alcaraz-Meléndez L. y S. Real-Cosío. M. 2012. Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. Instituto Politécnico Nacional. 14-45.
- Romeu- Carballo C. R. y M. Veitía- Rubio. 2012. Efecto antialimentario de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre *Heliothis virescens* y *Spodoptera frugiperda*. *Fitosanidad*, 16 (3): 155-159.
- Sosa M. A. 2004. Daño por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz bajo siembra directa en diferentes épocas en el noreste Santafesino. [Consultada en: 2016, 21, 11]. Disponible en <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/05-Agrarias/A-061.pdf>.
- Zavala-Sánchez M.A., Pérez-Gutiérrez S., Romo-Asunción D., Cárdenas-Ortega N. C. y M. A. Ramos-López. 2013. Activity of four *Salvia* Species Against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Southwestern Entomologist*, 38 (1): 67-73.