

**UNIVERSIDAD ESTATAL A DISTANCIA
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COSTA RICA**

**DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES PARA EL DESARROLLO.
ÉNFASIS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLAS**



**EFECTO INSECTICIDA, REPELENTE Y FUNGISTÁTICO DE
EXTRACTOS DE HOJAS Y FLORES DE “LLAMA DEL
BOSQUE” (*SPATHODEA CAMPANULATA* BEAUV)**.

**TESIS SOMETIDA A CONSIDERACIÓN DEL TRIBUNAL EVALUADOR
COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS NATURALES PARA EL DESARROLLO CON ÉNFASIS EN
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**

REYNALDO HUMBERTO ALARCÓN NOGUERA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COSTA RICA.

HEREDIA, COSTA RICA, FEBRERO, 2014.

**Universidad Estatal a Distancia
Instituto Tecnológico de Costa Rica
Universidad Nacional de Costa Rica**



Efecto insecticida, repelente y fungistático de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” (*Spathodea campanulata* Beauv)”.



Tesis sometida a consideración del Tribunal Evaluador como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias Naturales para el Desarrollo con énfasis en Sistemas de Producción agrícola

Estudiante

Reynaldo Humberto Alarcón Noguera

Director:

Dr. José Guillermo Penieres Carrillo

Asesor:

Dr. Tomás de Jesús Guzmán Hernández

Asesora:

Dra. Rosa Navarrete Maya

Heredia, Costa Rica, Febrero 2014.

Universidad Estatal a Distancia
Instituto Tecnológico de Costa Rica
Universidad Nacional de Costa Rica



Efecto insecticida, repelente y fungistático de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” *Spathodea campanulata* Beauv”.

Tesis sometida a consideración del tribunal evaluador como requisito para optar al grado de Doctor en Ciencias Naturales para el Desarrollo con énfasis en Sistemas de Producción agrícola.

**Reynaldo Humberto Alarcón Noguera
Sustentante**

Tribunal examinador:

**Víctor Hugo Fallas. Ph.D,
Representante Posgrados UNED**

**Freddy Araya Rodríguez. Ph.D.
Evaluador DOCINADE**

**Tomas Guzmán Hernández Ph.D.
Asesor de Tesis**

**Rosa Navarrete Maya. Ph.D.
Asesor de Tesis**

**José Guillermo Penieres Carrillo. Ph.D
Director de Tesis**

Febrero, 2014.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM, FESC Campo 1, especialmente al Dr. José Guillermo Penieres Carrillo por la dirección de la tesis, amistad y apoyo en la pasantía del programa de doctorado del DOCINADE. A la Dra. Amparo Londoño Orozco y Dr. Tonatiuh Cruz Sánchez, por las asesorías en microbiología y en la realización de las pruebas de actividad insecticida de los extractos en estudio sobre hongos levaduriformes y miceliales llevados a cabo en la UNAM, FESC Campo 4.

A la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS) de la FESC, con aprecio a la Dra. Rosa Navarrete Maya por su asesoría, amistad y apoyo en la pasantía en la evaluación de extractos con hongos fitopatógenos.

A El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Tapachula, en especial al Dr. Julio Rojas por su colaboración para realizar la segunda parte de la pasantía en evaluación de efectos repelentes, insecticidas con gorgojos del maíz *Sitophilus zeamais* y al equipo de profesionales del laboratorio de Ecología Química de Insectos de ECOSUR.

Al Dr. Tomas Guzmán Hernández, del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR), por la asesoría, apoyo moral y colaboración para la publicación de un artículo de la tesis del DOCINADE.

A la revista Tecnología en Marcha de ITCR, agradecimiento a la editora Alexa Ramírez por su colaboración para la publicación de un artículo de la tesis doctoral.

Al Laboratorio de Investigación de Plantas y Productos Naturales (LIPRONAT), de la Facultad de Farmacia y Ciencias Químicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), por su colaboración para la obtención de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”.

A la Carrera de Agronomía Tropical en especial a los profesores por su apoyo moral y amistad. A los investigadores del curso de Problema Especial de Investigación: Juan Luis Ajanel, Ana Karen Figueroa, Erasmo Cervantes, Florida Alma Auca, Antonio Boque y Francisco Espinoza, por su colaboración para el desarrollo de los ensayos de laboratorio.

A la Dirección General de Docencia de la USAC, por el apoyo económico y logístico para mi desarrollo en el programa de Doctorado del DOCINADE.

A los profesores del DOCINADE por compartir sus conocimientos y orientar mi formación en el Doctorado, especialmente a la Dra. Sayra Mungia y los Doctores Carlos Muñoz, Jorge Camacho y Adolfo Palma.

Dedicatoria

A mi hija: Mariana Elizabeth Alarcón Cruz, con todo mi amor y a mi esposa, agradeciendo todo su paciencia, amor, cariño y colaboración.

RESUMEN

El árbol “Llama del bosque” *Spathodea campanulata Beauv*, crece en forma natural como sombra de plantaciones de café y como ornamental en parques de ciudades y pueblos en Guatemala. Las flores, hoja y tallos poseen una variedad de compuestos, como terpenos, ácidos orgánicos, esteroides, sustancias volátiles, entre otras, con propiedades fagodisuasiva, insecticida; antiparasitaria y antimalárica. Dentro de ellos, se ha reportado que los terpenos presentan una actividad insecticida, repelente y antimicrobiana.

En Guatemala la “Llama del bosque” es una especie introducida y hasta la fecha, no hay estudios de mortalidad de insectos al visitar las flores a nivel de campo o por aplicación de extractos en el laboratorio, de actividad repelente y fungistática *in vitro*. Estos ensayos son fases necesarias para el desarrollo de un insecticida natural en un programa de tecnología alternativa al uso de plaguicidas químicos.

En esta investigación se realizaron ensayos de laboratorio para establecer la actividad insecticida de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” en algunas especies de plagas de *Spodoptera frugiperda*, *Phyllophaga sp.*; *Gynaikothrips ficorum*, *Hypothenemus hampei* y *Ceratitis capitata*. Estas son plagas de insectos de cultivos café, ficus, maíz y frutales que se encuentran en Guatemala. En los laboratorios de Ecología Química de Insectos en ECOSUR, Tapachula, Chiapas, México, se evaluó el efecto repelente e insecticida de hojas, flores, volátiles y extractos sobre gorgojos de maíz *Sitophilus zeamais*. Los extractos de hojas y flores tuvieron efecto insecticida en todas las especies de plagas menos en *Phyllophaga sp.* Las hojas frescas y flores presentaron efecto repelente sobre el gorgojo del maíz.

En los laboratorio de UNIGRAS-FESC-UNAM se realizó una evaluación anti-fúngica de los extractos mencionados contra los hongos fitopatógenos: *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.* *Alternaria sp* y *Curvularia sp.* Los extractos de hojas y flores

presentaron actividad fungistática temporal a las 48 horas de inoculados los hongos.

En las flores colectadas de los árboles también se encontraron insectos muertos, en su mayoría abejas meliponas (Apidae) y adultos de *Chrysomélidos*, *Forficularidae*, *Sciaridae*, *Scolytidae* y *Tephritidae*, estas últimas familias se consideran plagas de cultivos, frutas y especies forestales.

Los principales compuestos de los extractos de hojas y flores y de los volátiles de “Llama del bosque”, identificados por cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS) fueron monoterpenos, sesquiterpenos, derivados del furano y ésteres. Los terpenos identificados fueron α pineno, canfeno y mirceno. Estos compuestos han demostrado tener efectos insecticida, repelente y antimicrobiano.

Finalmente, los extractos evaluados no presentaron efectos citotóxicos en nauplios de la especie bioindicadora *Artemia salina* a 1 mg/ml, por lo que no se consideran tóxicos a las concentraciones evaluadas en los ensayos.

ABSTRACT

The “African tulip” tree, *Spathodea campanulata* Beauv., grows naturally like coffee cultivation shadow and is ornamental in the parks, cities and villages of Guatemala. The flowers, leaves and stems contain a variety of compounds such as terpenes, organic acids, sterols and volatile substances, with anti-feeding, insecticide, anti-parasitic and antimalarial properties. The terpenes were considered a high insecticide activity, repellent and antimicrobial.

In Guatemala the “African tulip” is an introduced specie and until now there are not insect mortality studies when they visit its flowers in outdoors or the repellent, anti-feeding and insecticide effects for extracts applications in the laboratory. These assays are necessary for natural insecticide development in an alternative technology program to use chemical pesticide.

In this research laboratory assays to demonstrate the insecticide activity of “African tulip” flowers and leaves extracts on some pest species: *Spodoptera frugiperda*, *Phyllophaga* sp, *Gynaikotrhips ficorum*, *Hypothenemus hampei* and *Ceratitis capitata* were made. Those are insect pest of coffee cultivation, ficus, corn and fruits in Guatemala.

In Chemistry Ecology Insect Laboratory of ECOSUR, Tapachula, Chiapas, Mexico, the insecticide and repellent effect of flowers and leaves extract on zeamias weevil (*Sitophilus zeamais*) were evaluated, and the extracts showed insecticide effect in all pests except *Phyllophaga* sp. The fresh flowers and leaves showed repellent effect on zeamais weevil.

In UNIGRAS-UNAM Laboratories anti-fungal assay with cited extracts on the plant pathology fungus: *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp y *Curvularia* sp was made. The flowers and leaves extracts showed fungistatic activity after 48 hours to inoculate the fungus.

In the collected flowers of the “African tulip” tree, it also was founded die insects, the most identificated insect were meliponas bees (*Apidae*) and others families,

such as *Chrysomelidae*, *Forficularidae*, *Sciaridae* and *Tephritidae*. These families are considered pests of annual crops, fruits and forest species.

The main components of flowers, leaves extract, and volatile compounds of “African tulip” identified by GC-MS were: monoterpenes, sesquiterpenes, furane derivatives and esters. Among the terpenes identified were: α -pinene, camphene and myrcene. The last compound has demonstrated insecticide, repellent and anti-microbial effect.

Finally, the evaluated extracts do not show cytotoxic effects on nauplios of the bioindicator specie *Artemia salina* at 1 mg/ml, so they are not considered toxic at evaluated concentrations in the realized assays.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Contraportada.....	i
Tribunal Examinador.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Dedicatoria.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vii
Tabla de contenidos.....	ix
Lista de cuadros.....	xiv
Lista de figuras	xvii
Lista de anexos.....	xviii
1 INTRODUCCIÓN.....	01
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	03
1.2 OBJETIVOS.....	05
1.3 HIPÓTESIS.....	06
2 MARCO TEÓRICO.....	07
2.1 Distribución de <i>S. campanulata</i>	07
2.2 Composición del néctar de las flores.....	07
2.3 Mortalidad de insectos y efectos medicinales de los extractos.....	09
2.4 El desarrollo de un insecticida botánico.....	12
2.5 Preparación artesanal de extractos.....	12
2.6 Plaguicidas botánicos producidos industrialmente.....	13
2.7 Descripción y taxonomía de “Llama del bosque”.....	14
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1 Registro de insectos encontrados muertos en las flores.....	15
3.2 Colecta de hojas y flores de <i>S. campanulata</i>	15
3.3 Obtención de extractos y análisis químico.....	15

3.4 Colecta de larvas y adultos de insectos plagas.....	16
3.5 Uso de insecticidas químicos comerciales.....	17
3.5.1 Características del insecticida Volaton.....	18
3.5.2 Propiedades físicas y químicas del Volaton.....	19
3.5.3 Características del insecticida Malation.....	20
3.5.4 Características del insecticida Terbufos.....	21
3.5.5 Características del insecticida Endosulfan.....	22
3.5.6 Características del fungicida Tebuconazole.....	23
3.6 Características de las plagas de insectos utilizadas en los ensayos....	24
3.6.1 “Broca del café” (<i>Hypothenemus hampei</i>)	24
3.6.2 <i>Spodoptera frugiperda</i> (<i>Laphygma frugiperda</i>).....	25
3.6.3 “Gallina ciega” (<i>Phyllophaga spp.</i>)	26
3.6.4 “Trips” de los Ficus (<i>Gynaikothrips ficorum</i>).....	27
3.6.5 “Mosca del Mediterráneo” (<i>Ceratitis capitata</i>).....	28
3.7 Características de los hongos utilizados en los ensayos.....	29
3.7.1 Características de <i>Aspergillus sp.</i>	29
3.7.2 Características de <i>Alternaria sp.</i>	29
3.7.3 Características de <i>Fusarium sp.</i>	30
3.7.4 Características de <i>Curvularia sp.</i>	31
3.8 Ensayos de actividad insecticida realizados en Mazatenango, Guatemala.....	32
3.8.1 Aplicación de los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”...	32
3.8.2 Diseño experimental.....	33
3.8.3 Tratamientos, repeticiones y unidades experimentales.....	33
3.8.4 Toma de lecturas de los ensayos.....	34
3.8.5 Variables de respuesta evaluadas.....	34
3.8.6 Transformación de datos y análisis estadísticos.....	35
3.8.7 Registro de insectos muertos en las flores de “Llama del bosque”....	35
3.9 Actividad repelente de “Llama del bosque”.....	35

3.9.1 Preparación de materiales de “Llama de bosque”	35
3.9.2 Ensayo con vasos plásticos.....	36
3.9.3 Diseño experimental.....	36
3.9.4 Procedimiento.....	37
3.9.5 conteo de insectos y análisis estadísticos.....	37
3.10 Actividad insecticida de “Llama del bosque”	38
3.10.1 Diseño experimental.....	38
3.10.2 Procedimiento.....	38
3.10.3 conteo de insectos y análisis estadísticos.....	38
3.11 Efecto fungistático de extractos de “Llama del bosque” en hongos fitopatógenos	38
3.11.1 Ensayos de laboratorio.....	39
3.11.2 Número de ensayos y toma de datos.....	39
4 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	40
4.1 Obtención de extractos de hojas y flores.....	40
4.2 Colecta e identificación de insectos muertos en las flores de “Llama del bosque”	40
4.3 Ensayos de aplicación de extractos a broca del café.....	41
4.3.1 Evaluación de la mortalidad de “brocas del café” al aplicar extractos de hojas de “Llama del bosque”.....	41
4.3.2 Evaluación de la mortalidad de “brocas del café” al aplicar extractos de flores.....	43
4.4. Ensayos de aplicación de extractos a “moscas del Mediterráneo”	45
4.4.1 Evaluación de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” al aplicar extractos de hojas.....	45
4.4.2 Evaluación de la mortalidad de “moscas del Mediterráneo “al aplicar extractos de flores.....	47
4.5 Evaluación de la mortalidad de “gallina ciega” con la aplicación de extractos de hojas de “Llama del bosque”	49

4.6	Ensayos de aplicación de extractos de “Llama del bosque” sobre larvas de “gusano cogollero”	50
4.6.1	Evaluación de efecto insecticida aplicando extracto de hojas de “Llama del bosque” sobre “gusano cogollero”	50
4.6.2	Evaluación del efecto insecticida del extracto de flores de “Llama del bosque” en “gusanos cogolleros”	51
4.7	Evaluación del efecto insecticida de extractos de “Llama del bosque” sobre “trips”	53
4.7.1	Evaluación del efecto insecticida de extractos de flores de “Llama del bosque” sobre “trips”	53
4.7.2	Evaluación del efecto insecticida de extractos de hojas de “Llama del bosque” sobre “trips”	54
4.8	Resultados generales de los extractos evaluados con mejor efecto insecticida sobre plagas.....	56
4.8.1	Ensayos en “broca del café”	56
4.8.2	Ensayos con “moscas del Mediterráneo”	56
4.8.3	Ensayos con “gallina ciega”	57
4.8.4	Ensayos con “gusano cogollero”	57
4.8.5	Ensayos con “trips” de los Ficus.....	57
4.9	Resultados de actividad repelente de “gorgojos de maíz” con hojas y flores de “Llama del bosque”	58
4.10	Resultados del efecto insecticida de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” en “gorgojos de maíz”	60
4.11	Resultados del análisis de cromatografía de gases acoplado a masas de los extractos y volátiles de “Llama del bosque”	65
4.12	Resultados de actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre hongos fitopatógenos.....	70
4.13	Resultados de la actividad citotóxica contra nauplios de <i>Artemia salina</i> de extractos de hojas y flor de “Llama del bosque”	77
5	CONCLUSIONES	78

6	RECOMENDACIONES	80
7	BIBLIOGRAFÍA	81
8	ANEXOS	86

Lista de cuadros

Cuadro		Página
1	Pasos para desarrollar un insecticida botánico.....	12
2	Fases de investigación para el desarrollo de productos botánicos comerciales, producidos industrialmente.....	13
3	Plagas de insectos, insecticidas químicos y dosis que se utilizaron en los ensayos.....	17
4	Tratamientos utilizados en los ensayos.....	34
5	Informe de diagnóstico entomológico de insectos colectados en flores de “Llama del bosque”.....	86
6	Mortalidad “broca de café” después de la aplicación de extractos de hojas de “Llama del bosque”.....	42
8	Prueba de Tukey para “brocas” muertas a las 72 horas....	43
9	Mortalidad de “brocas del café” después de aplicar extractos de flores de “Llama del bosque”.....	43
11	Prueba de Tukey, para “brocas” muertas a las 24 horas....	44
12	Datos de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” después de la aplicación de extracto de hojas.....	46
14	Prueba de medias de Tukey para moscas muertas a las 72 horas.....	47
15	Datos de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” después de la aplicación de extractos de flores.....	48
17	Medias del número de moscas muertas a las 72 horas después de la aplicación del extracto de flores a diferentes concentraciones.....	49
18	Datos de mortalidad de larvas de “gallina ciega” después de aplicar los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”.....	50

19	Datos de mortalidad de “gusanos cogolleros” aplicando extracto de hojas.....	52
20	Datos de mortalidad de “gusano cogollero” aplicando extracto de flores.....	53
22	Resultados obtenidos de la evaluación tratamientos de extracto de flores de “Llama del bosque” sobre “trips” de los Ficus.....	54
23	Resultados obtenidos de la evaluación tratamientos de extracto de hojas de “Llama del bosque” sobre “trips” de los Ficus.....	55
24	Porcentaje acumulado de insectos escapados de los vasos perforados por actividad repelente de “Llama del bosque”.....	58
26	Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos escapados a las dos horas de liberados en los tratamientos.....	59
28	Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos escapados a las 17 horas de liberados en los tratamientos.....	60
29	Porcentaje acumulado de mortalidad de “gorgojos” por actividad insecticida de “Llama del bosque”.....	61
31	Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos, una hora después de la aplicación de los tratamientos.....	62
33	Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos a las dos horas después de la aplicación de los tratamientos.....	63
35	Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos a las seis horas después de la aplicación de los tratamientos.....	64
37	Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos a las 12 horas después de la aplicación de los tratamientos.....	65

38	Compuestos presentes en hojas y flores y volátiles de “Llama del bosque”	66
39	Resultados de la actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” en fitopatógenos.....	71
40	Resultados de la actividad citotóxica de extractos de “Llama del bosque” en nauplios de <i>Artemia salina</i>	77

Lista de figuras

Figura		Página
1	Estructuras de compuestos identificados en “Llama del bosque”.	10
2	Flores de “Llama del bosque” en Suchitepéquez.....	14
3	“Broca del café” en estado adulto utilizadas en los ensayos.....	24
4	Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i> en maíz.....	25
5	Larvas de <i>Phyllophaga spp</i> usadas en el bioensayo.....	26
6	Daños en hojas de ficus y adulto de <i>Gynaikothrips ficorum</i>	27
7	Fotografía de macho y hembra de “moscas del Mediterráneo”.....	29
8	Conidióforo, conidias y micelio de <i>Aspergillus sp</i>	29
9	Conidias, conidióforos y micelio de <i>Alternaria sp</i>	30
10	Micelio y conidias de <i>Fusarium sp</i>	31
11	Conidióforos, conidias y micelio de <i>Curvularia sp</i>	31
12	Soluciones preparadas de extractos de hojas.....	33
13	Equipo utilizado para ensayo de repelencia de <i>Sitophilus</i> con “Llama del bosque”.....	36
14	Cromatogramas de compuestos presentes en hojas y flores de “Llama del bosque”.....	66
15	Estructuras químicas de los terpenos: α pineno, canfeno y mirceno.....	67
16	Medición de la actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” en <i>Alternaria sp</i>	70
17	Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre	

	<i>Alternaria sp.</i>	72
18	Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre <i>Fusarium sp.</i>	73
19	Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre <i>Curvularia sp.</i>	75
20	Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre <i>Aspergillus sp.</i>	76

Lista de anexos

Cuadro 7	ANDEVA para “brocas” muertas a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos.....	88
Cuadro 10	ANDEVA para “brocas” muertas a las 24 horas después de la aplicación de los tratamientos.....	88
Cuadro 13	ANDEVA para moscas muertas a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos.....	88
Cuadro 16	ANDEVA para moscas muertas a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos.....	88
Cuadro 21	ANDEVA para los “gusanos cogolleros” muertos a las 12 horas.....	89
Cuadro 25	ANDEVA de los resultados de insectos escapados a las dos horas después de liberados en los tratamientos.....	89
Cuadro 27	ANDEVA de los resultados de insectos escapados a las 17 horas después de liberados en los tratamientos.....	89
Cuadro 30	Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, una hora después de la aplicación.....	89
Cuadro 32	Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a las dos horas después de la aplicación.....	90

Cuadro 34 Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a las seis horas después de la aplicación.....	90
Cuadro 36 Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a las 12 horas después de la aplicación.....	90
Figura 21 Ubicación geográfica de la ciudad de Mazatenango y del sitio donde se estableció el proyecto.....	91
Acta de Defensa de Tesis Doctoral.....	92

1. INTRODUCCIÓN

Spathodea campanulata es un árbol conocido comúnmente como tulipán africano, african tulip, fountain tree, flamboyán, Llama del bosque o árbol de fuego; ha sido plantada a través de la zona tropical húmeda por sus flores rojo-naranja de gran tamaño, el árbol es de rápido crecimiento, usado principalmente como ornamental para cercas vivas y sombra de cafetales. Las flores de este árbol producen néctar para atraer polinizadores y ocasiona la mortalidad de insectos. Este árbol ayuda a la rehabilitación de tierras perturbadas a través de su invasión agresiva y su rápido crecimiento. La madera es liviana y poco usada (Francis, 1990). *S. campanulata* también puede usarse para leña y como barrera rompe vientos; se reproduce por semilla y por estacas. Crece en suelos ácidos y calizos (Miller, 1995). Debido a su resistencia y a la belleza de sus flores, se ha dispersado por todo el mundo. El árbol también se utiliza como medicina popular para el tratamiento de edema, disentería, úlceras, gonorrea y diarrea (Ngouela, Nyasse, Tsamo, Sondengam, y Connolly 1990).

Los constituyentes químicos del néctar de las flores son de tipo terpenos y carbohidratos como sorbosa, fructosa, manosa y sacarosa. También está presente la α -amirina, β -amirina, cicloeucaanol, colesterol y estigmasterol (Flach, 2005).

Por otro lado, el uso de extractos vegetales constituye una alternativa al empleo de insecticidas orgánico-sintéticos comerciales que se usan actualmente para el control de la mayoría de plagas. Tomando en cuenta los antecedentes de la toxicidad de la “Llama del bosque” para insectos, parásitos ó fitopatógenos, se seleccionó este árbol para evaluar *in vitro* extractos de hojas y flores para el control de plagas de insectos y hongos fitopatógenos, realizando ensayos para establecer la actividad insecticida de los extractos en algunas especies de plagas en estado de larva de *Spodoptera frugiperda* y *Phyllophaga sp*, también en adultos de *Gynaikothrips ficorum*, *Hypothenemus hampei* y *Ceratitis capitata*. En El

Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Tapachula, se evaluó el efecto repelente e insecticida *in vitro* de hojas, flores, volátiles y extractos sobre “gorgojos de maíz” (*Sitophilus zeamais*). Los extractos de hojas y flores tuvieron efecto insecticida en todas las especies de plagas evaluadas menos en *Phyllophaga sp.* Las hojas frescas, flores y sus compuestos volátiles también presentaron efecto repelente sobre el “gorgojo del maíz”. En cuanto a la evaluación *in vitro* antifúngica de los extractos mencionados contra diferentes hongos fitopatógenos (*Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.* y *Curvularia sp.*), se determinó que la mayor actividad fungistática se presentó a las 48 horas de inoculados los hongos.

Los insectos muertos encontrados a nivel de campo en las flores de “Llama del bosque”, en su mayoría fueron abejas meliponas y adultos de *Chrysomélidos*, *Forficularidae*, *Sciaridae*, *Scolytidae* y *Tephritidae*; a excepción de las abejas, todos los insectos encontrados se consideran plagas de cultivos, frutas y especies forestales.

Los compuestos de los extractos de hojas, flores y de los volátiles, identificados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, fueron: monoterpenos, sesquiterpenos, furanos y ésteres. Finalmente, se determinó que los extractos no presentaron efectos citotóxicos en nauplios de la especie bioindicadora de *Artemia salina* a la concentración mínima de efectos ecotoxicológicos de 1 mg/ml, por lo que no se consideran tóxicos a la fauna benéfica a las concentraciones evaluadas en los ensayos *in vitro*.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Las plagas de los cultivos agrícolas de Centro América, constituyen una limitante severa para la producción de granos, frutas y vegetales. La Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2000), hace referencia a que la región centroamericana es una de las que mayor uso de plaguicidas aplica por área agrícola; para reducir los daños de los insectos, patógenos y otras plagas que disminuyen hasta en un 40 % las cosechas (Andrews y Quezada, 1989).

Los insectos en gran cantidad afectan a los cultivos en diferentes estados de desarrollo. La forma tradicional de controlar a los insectos es mediante el uso de insecticidas químicos sintéticos, los cuales se han aplicado unilateralmente en forma excesiva y repetitiva sin un manejo totalmente adecuado, generando problemas de resistencia de las plagas de insectos a los insecticidas, problemas de contaminación ambiental e intoxicaciones agudas, crónicas y detección de residuos en alimentos (García, 1997), así como un considerable aumento en el costo de producción del cultivo, especialmente en granos básicos y hortalizas, considerando además que, en los últimos diez años, el precio de estos insecticidas se ha triplicado en el mercado por el incremento del costo en los insumos para su producción.

En el contexto del manejo integrado de plagas, los plaguicidas deben ser el último recurso empleado, debido a sus repercusiones en otros organismos y en la salud humana. Por lo tanto, es necesario investigar y desarrollar sistemas alternativos de control de plagas, como es el uso de insecticidas botánicos, los cuales son más amigables con el ser humano y con el medio ambiente, además de que pueden ser elaborados por los mismos agricultores (Hellpap, 2000).

En algunos estudios realizados en Brasil (Trigo y Santos, 2000), se determinó que el néctar del mucílago de las flores del árbol conocido como “Llama de bosque” (S.

campanulata), causa la muerte de insectos, especialmente abejas, avispas, moscas y hormigas. Hay estudios que evidencian la mortalidad de un 97% de insectos cuando visitan las flores en busca de néctar y polen; también, en ensayos de laboratorio se registra hasta un 90% de mortalidad de larvas de insectos como *Spodoptera frugiperda* (Portugal, 1963; Segantini, Romano y Ribeiro, 2002; Trigo y Santos, 2000).

Este árbol es originario de África y es común en los bosques; en Guatemala es utilizado como sombra del café, también se encuentra como ornamental en parques urbanos. Asimismo, hasta la fecha en Guatemala no hay estudios sobre la mortalidad de insectos al visitar las flores a nivel de campo o por aplicación de extractos *in vitro*, tampoco hay estudios de actividad repelente y fungistática de los extractos. Estos ensayos son una fase necesaria para el desarrollo de un insecticida botánico, como parte de un programa de tecnología alternativa al uso de plaguicidas químicos en el combate de plagas y enfermedades de los cultivos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto insecticida, repelente y fungistático de extractos etanólicos de hojas y flores de la planta “Llama del bosque” (*Spathodea campanulata*) para ser usados como un plaguicida natural en el control de plagas.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Registrar los insectos que se encuentren muertos en las flores del árbol “Llama del bosque” *Spathodea campanulata*, en dos fincas cafetaleras de los municipios de Mazatenango y Retalhuleu, Guatemala, para determinar el uso potencial en el control de plagas.
- Evaluar el efecto insecticida y repelente de extractos etanólicos de hojas y flores de “Llama del bosque”, a nivel de laboratorio, para el control de plagas.
- Determinar la actividad fungistática de los extractos etanólicos de hojas y flores de “Llama del bosque” en los hongos fitopatógenos: *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.* y *Curvularia sp.* y la citotoxicidad en el crustáceo *Artemia salina*.
- Identificar los compuestos químicos más comunes en los extractos etanólicos de flores y hojas y de volátiles de “Llama del bosque”.

1.3 HIPÓTESIS

Dado que el néctar de las flores de los árboles de *Spathodea campanulata* provoca mortalidad de diferentes tipos de insectos que son plagas de cultivos en Suchitepéquez, Guatemala, entonces se espera que los extractos de hojas y flores de *este árbol* puedan presentar efecto insecticida, repelente o fungicida en algunas plagas de insectos y hongos fitopatógenos a nivel de laboratorio.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Distribución de *S. campanulata*.

La especie *S. campanulata*, pertenece a la familia de las Bignoniáceas y popularmente es conocida como “Llama del bosque” o “tulipán africano”. Es nativa de África occidental y es una especie introducida en América tropical y en Asia. En Guatemala se ha observado desde los 200 a los 1900 msnm, especialmente en parques de pueblos y ciudades, en cercas vivas y como sombra natural de cafetales. Debido a la belleza de sus flores, este árbol se ha esparcido por todo el mundo.

En la región de origen del árbol (oeste de África tropical), las flores de esta planta son polinizadas por pájaros como colibrí o chupa miel de la especie *Eupetomena macroura* (Trochilidae), que frecuentemente visita las flores y colecta el néctar directo de la flor o perfora los botones florales en la base de la corola. En Panamá se ha determinado que las flores son polinizadas por murciélagos (Flach, 2005).

2.2 Composición del néctar de las flores.

Las flores, hojas y tallos poseen una variedad de compuestos con propiedades fagodisuasivas, insecticidas; antiparasitarias, antimalariales y anti-VIH (Makinde, Amusan y Adesogan 1998, Makinde, Adesogan y Amusan 1987; Davis, Pylatuik, Poradis y Low 1998; Trigo y Santos 2000, Flach, 2005). Entre los compuestos presentes están los terpenos, ácidos orgánicos, esteroides y otros compuestos volátiles. Los terpenos son metabolitos secundarios fabricados por la plantas en respuesta al ataque de herbívoros y se consideran los compuestos con mayor actividad anti-alimentaria e insecticida, entre otras funciones dentro de las plantas.

El néctar de las flores es utilizado para atraer insectos, hormigas y larvas. Éste es secretado por las glándulas llamadas nectarios y se puede localizar en tejidos florales, especialmente en el cáliz, corola, estambres y carpelo (Flach, 2005). Las plantas se han adaptado y modificado, tanto morfológica como químicamente, a fin de preservar su sobrevivencia. La toxicidad del néctar de las flores está asociada a la defensa de las plantas contra el robo de polen o néctar y está controlada para no afectar a sus polinizadores como los pájaros chupa miel (Davis et al. 1998); también, se ha establecido que la constitución química del néctar es de carbohidratos, proteínas, aminoácidos y de iones inorgánicos que producen la toxicidad; por otro lado, éste es aromático y atrayente para algunos organismos.

Ngouela et al. (1990) son los investigadores más estudiosos de los metabolitos de esta planta. Estos autores indican que a partir del extracto clorofórmico del tallo fueron aislados los triterpenos ácido 3- β -acetoxioleanólico (SC1), ácido siaresinólico (SC2), 3- β -acetoxi-12-hidroxiolean-28,13-ólido (SC3) y ácido oleanólico (SC4). Estos investigadores también aislaron del tallo el triterpeno ácido espatódico (SC5) y el 3-O- β -D-glucopiranosidostero (SC6). De los extractos con acetato de etilo de las hojas fueron aislados el hidroxiestero, el espatodol (SC7) y el β -sitostero (SC8).

Makinde et al. (1997), aislaron algunos compuestos activos, siendo ellos el ácido 3- β -hidroxiurs-12-en-28-óico (ácido ursólico) (SC10) y dos de sus derivados, el ácido 3- β -hidroxiurs-12,19-dien-28-óico (ácido tomentosólico (SC11) y el ácido 3- β -dihidroxiurs-12-en-28-óico (SC12). Flach (2005) reporta que el néctar de las flores tiene constituyentes volátiles, carbohidratos, y metabolitos secundarios. En la fracción acuosa del néctar de las flores de *S. campanulata*, encontró evidencia de carbohidratos como sorbosa, fructosa, glucosa, manosa y sacarosa. También identificó en el néctar a la α -amirina y β -amirina, cicloeucalenol, colesterol, estigmasterol y otros triterpenos. Por otra parte, Pianaro et al. (2007) señalan que preparados de la corteza del tallo de la *S. campanulata* se emplean para edemas y

enfermedades de la piel por hongos, herpes, dolores de estómago, diarrea, hipoglucémico, anti-VIH y contra la malaria. Estudios fitoquímicos reportados en la especie, señalan la presencia de esteroides, saponinas, ácido ursólico, y sustancias pépticas, además de que las hojas han proporcionado espatodol, ácido cafenólico y otros ácidos fenólicos, flavonoides, mientras que las frutas contienen polifenoles, taninos, saponinas y glucósidos. Asimismo, en las flores se ha reportado la presencia de antocianinas (Pianaro et al., 2007). También, Petacci (1998, citado en Pianaro et al., 2007), relacionó que el néctar floral contiene una mezcla compleja de triterpenoides y esteroides.

2.3 Mortalidad de insectos y efectos medicinales de los extractos.

En investigaciones en Brasil, Portugal (1963) encontró más de 200 insectos muertos en flores de *S. campanulata*, en donde la mayoría eran abejas meliponas, moscas y hormigas. En cuanto a estudios del néctar de la planta, Trigo y Santos (2000) determinaron que en el mucílago contenido en los botones florales y en las flores jóvenes puede estar disuelto el néctar y éste ser el responsable de la muerte de insectos. En observaciones de campo se determinó que durante el día, en que las flores se abren (antesis), muere el 96.8% de insectos, en el segundo día la mortalidad disminuye mucho (2.3%), y del tercero al quinto día la mortalidad de insectos cae al 0.3%. Entre los insectos muertos están las abejas *Scaptotrigona postica*, que fueron encontradas con polen de la planta en sus patas.

Los mismos autores al examinar 445 flores, encontraron 345 insectos (97% meliponinae, en su mayoría *S. postica*), otros fueron díptera y véspidae(1.7%), formícidae (1%) y ortóptera (0.3%). Los himenópteros y dípteros fueron especies muy pequeñas con dimensiones de 0.5 a 1.0 cm, y los ortópteros de aproximadamente 2 cm de largo. Este estudio afirma el potencial insecticida de las flores de “Llama del bosque” en varios órdenes taxonómicos de la clase insecta.

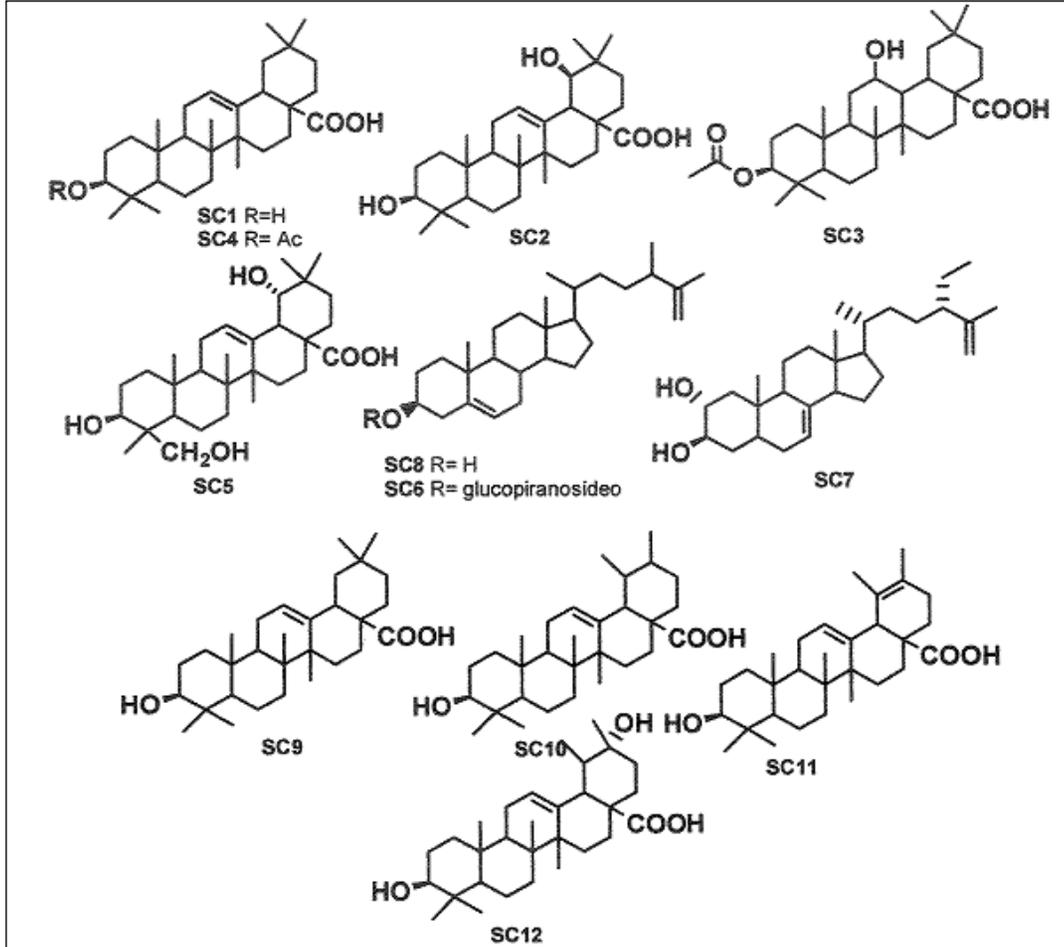


Figura 1. Estructuras de compuestos identificados en “Llama de bosque” (Flach, 2005).

Otros bioensayos utilizando las mismas abejas adultas de *S. postica*, mostraron que cuando éstas consumieron sacarosa y mucílago o néctar del “Llama del bosque”, la longevidad se redujo al 52.9 %, comparado con una longevidad del 94.9% con el testigo (consumo únicamente de agua) y 4.8 % de longevidad con mucílago puro, durante 24 horas. (Trigo y Santos, 2000). Este ensayo demuestra que el mucílago de las flores de “Llama del bosque” tiene potencial para aplicarse en cebos o dietas para reducir la longevidad de los insectos.

Segantini et al. (2002), evaluaron el efecto de extractos acuosos de las hojas de *S. campanulata* al 1, 2, 3, 4 y 5% sobre larvas del segundo instar de *Spodoptera frugiperda*. Realizaron lecturas de mortalidad de larvas a las 24, 36, 48 y 72 horas después del inicio del experimento en laboratorio y demostraron que a las 72 horas las concentraciones de 4 y 5% causaron una mortalidad del 91 al 100 %. Este estudio demuestra que a nivel de campo pueden emplearse extractos acuosos de “Llama del bosque” al 4 ó 5 % para el control de gusano cogollero como un método alternativo al uso de insecticidas químicos.

Torres et al. (2010), investigadores del Centro Regional e Internacional de Salud Pública de Tapachula, Chiapas, México, evaluaron la toxicidad de los extractos de la flor de *S. campanulata* en estados inmaduros de *Anopheles albimanus*, mosquito que transmite la malaria, y reportan un 98.3% de mortalidad del tercer y cuarto instar de larva a una concentración de 5% y 10%.

Otros investigadores, como Makinde, et al. (1998), reportan que los extractos hexánicos, clorofórmicos y acuosos de la cáscara del tallo fueron investigados acerca de su actividad contra *Plasmodium berghei berghei* en ratas. Encontraron que los extractos hexánicos y clorofórmicos suprimieron la actividad de *P. berghei berghei* de 22 al 80% y 52 al 74%, respectivamente, quedando sometidos a dosis de 50 a 400 mg/Kg.

Extractos acuosos y butanólicos de la cáscara del tallo también presentaron actividad hipoglicémica en ratas, pero no tuvo influencia en el nivel de insulina en ratas diabéticas. Los extractos de la corteza también han presentado efectos anti-VIH (Das, Dhanobalan y Doss, 2009).

2.4 El desarrollo de un insecticida botánico.

Los plaguicidas naturales tienen que cumplir estándares similares a los productos sintéticos. Deben ser selectivos, baratos, fáciles de preparar por los mismos agricultores, fáciles de manipular y sin riesgo para el medio ambiente. Los pasos básicos para su elaboración se presentan en el cuadro 1 (Hellpap, 2000).

Cuadro 1. Pasos para desarrollar un insecticida botánico.

Actividad	Método
Selección de especies de plantas	Revisión de literatura y conocimiento sobre control de plagas, botánica etnológica y medicina tradicional. Selección de ciertas familias
Selección de partes de plantas	Bioensayos (laboratorio)
Eficiencia de distintos extractos	Bioensayos (laboratorio)
Primeros datos toxicológicos	Revisión de literatura y conocimientos.
Modo de Acción	Bioensayo (laboratorio)
Plagas controladas	Bioensayo (Lab. y campo)
Métodos de extracción, formulación, dosis, toxicidad aguda.	Bioensayo (Lab. y campo), pruebas orales, dermales e inhalación.
Extensión, propagación de plantas.	Extensionistas, seminarios, medios de masificación, folletos.

2.5 Preparación artesanal de extractos.

Uno, 10 y 50 gramos de materiales de planta seca y molida, son mezclados, por separado, en un litro de agua, alcohol (metanol o etanol) y hexano. Las mezclas son maceradas por aproximadamente 3 horas. Después que los extractos han reposado por una hora, son filtrados: el extracto acuoso es evaluado directamente. Los extractos en alcohol y en hexano son evaporados bajo vacío y diluidos en un

litro de agua con la ayuda de emulsificantes o pequeñas cantidades de alcohol (Hellpap, 2000).

2.6 Plaguicidas botánicos producidos industrialmente.

El desarrollo de un plaguicida botánico comercial producido industrialmente es muy similar al de los plaguicidas sintéticos. Se requieren estudios: de química, biología, tecnología y toxicología como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Fases de investigación para el desarrollo de productos botánicos comerciales producidos industrialmente.

Área de Investigación	Fase 1	Fase 2	Fase 3
Química	Identificación de ingredientes activos	Métodos de determinación del ingrediente activo	Establecimiento del control de calidad de la unidad
Biología	Gran número de ensayos de campo	Efectos sobre animales benéficos	Estudio de factibilidad técnica
Tecnología	Técnicas de extracción, procesamiento y formulación	Estudio de factibilidad técnica	Establecimiento de una planta de producción.
Toxicología	Toxicidad aguda, efectos cancerígenos, mutagénicos y teratogénicos.	Toxicidad subcrónica y crónica	Toxicidad crónica
Leyes		Patente	Registro

2.7 Descripción y taxonomía de la “Llama del bosque”.

Clasificación botánica

Reino: *Plantae*

Sub-reino: *Tracheobionta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Lamiales*

Familia: *Bignoniaceae*

Tribu: *Tecomeae*

Género: *Spathodea*

Especie: ***S. campanulata***

Nombre binomial ***Spathodea campanulata***

(<http://es.wikipedia.org/wiki/Spathodea>, consultado 20 /03/2009).



Figura 2. Flores de “Llama del bosque” en Suchitepéquez.
(Fotografía de Alarcón, 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Registro de insectos encontrados muertos en las flores.

La colecta de flores de los árboles de *S. campanulata* Beav., se realizó en los departamentos de Suchitepéquez y Retalhuleu de la República de Guatemala, en 2 fincas de café ubicadas en los municipios de Mazatenango y Retalhuleu en una franja altitudinal de 300 a 500 msnm., se seleccionaron dos árboles de “Llama del bosque” utilizados como sombra del café. En cada árbol se seleccionaron 4 ramitas con botones florales ubicadas en los cuatro puntos cardinales del árbol con el objeto de colectarlas y llevarlas al laboratorio de Entomología en Centro Universitario de Mazatenango, para obtener y cuantificar los insectos muertos dentro de las flores. Los insectos fueron identificados en el Laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

3.2 Colecta de hojas y flores de *S. campanulata*.

Las hojas y flores del árbol “Llama del bosque”, fueron colectadas en árboles de las fincas cafetaleras de Suchitepéquez y fueron transportadas en bolsas de papel kraft al laboratorio de Entomología del Centro Universitario de Suroccidente para preparar los extractos. Se colectaron flores frescas de recién apertura (anthesis). Las hojas y flores fueron deshidratadas antes del proceso de obtención de los extractos.

3.3 Obtención de extractos y análisis químico.

Se pesó una muestra de 200 g de hojas secas y molidas, éstas fueron maceradas en aproximadamente 2.5 litros de etanol al 95% durante 2 días; se obtuvo el concentrado, se lavó, filtro y concentró en rotavapor y se agregó nuevamente alcohol hasta cubrir el material, se dejó en reposo 24 horas. De esta forma se

realizaron 3 extracciones sucesivas y todas las extracciones fueron concentradas hasta sequedad. Posteriormente se colocó el extracto en una desecadora y se obtuvo el rendimiento hasta que el extracto estuviera completamente seco. Así, se obtuvo un rendimiento de extracción de 8.61% (17.22 gramos de extracto). Para el caso de las flores, y bajo el mismo procedimiento de extracción, se obtuvieron 11.77 g de extracto de flores a partir de 74.1184 g de flores secas y molidas, lo cual representó el 15.88% de rendimiento.

Las extracciones se realizaron en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. El análisis químico de los extractos de hojas y flores, así como de los volátiles de las flores fue realizado por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas en El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), ciudad de Tapachula, Chiapas, México.

3.4 Colecta de larvas y adultos de insectos plagas.

Para el caso de la plaga del maíz conocida como “gusano cogollero” (*S. frugiperda*) y para “gallina ciega” (*Phyllophaga sp.*), éstas fueron colectadas en campos de los cultivos orgánicos de café, del municipio de Samayac, Suchitepéquez, en los cuales también existen siembras de maíz. Las larvas de “gusano cogollero” fueron del 3er. instar larvario y las de “gallina ciega” del segundo instar larvario. Las larvas de “cogollero” se colocaron en bandejas con dieta de hojas verdes y frescas de maíz, mientras que las larvas de “gallina ciega” se colectaron en raíces y suelo del mismo sitio y se mantuvieron en suelo húmedo con su dieta natural proveniente del mismo suelo del lugar de colecta.

Las “moscas de la fruta” (*C. capitata*), fueron proporcionadas por el Programa de la Mosca del Mediterráneo (MOSCAMED) del municipio de Retalhuleu. Departamento de Retalhuleu, en estado de pupa con un día para emerger el adulto. Los adultos fueron alimentados con una dieta de agar, azúcar y benzoato

de sodio. Las “brocas del café” (*H. hampei*) fueron proporcionadas por el laboratorio de ANACAFE (Asociación Nacional del Café) de la Finca Buena Vista, municipio de San Luis, Retalhuleu, en frutos de café con presencia de perforaciones de broca, los frutos se colocaron en tamices con el objeto de secarlos y coleccionar los insectos adultos que emergieron de los mismos. El mismo día de la emergencia se realizaron los ensayos.

3.5 Uso de insecticidas químicos comerciales

Los insecticidas químicos comerciales empleados como testigos, son los más utilizados por los agricultores para el control de estos insectos, cuadro 3.

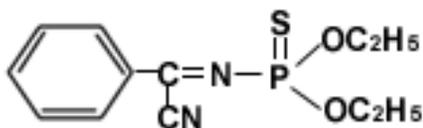
Cuadro 3. Plagas de insectos, insecticidas químicos y dosis que se utilizaron en los ensayos.

Plaga	Cultivo	Insecticida	Dosis
<i>S. frugiperda</i>	Maíz	Phoxim (Volaton al 5%) BAYER	25 Kg/ ha
<i>Phyllophaga sp.</i>	Caña de azúcar	Terbufos (Agrofos) BASF	1 Kg/ ha
<i>G. ficorum</i>	Ficus	Endosulfan (Thiodan 35 EC) HOECHST	2 l/ ha
<i>H. hampei</i>	Café	Endosulfan (Thiodan 35 EC) BAYER	2 l/ ha
<i>C. capitata</i>	Cítricos	Malation (Malation) 50 EC BAYER	0.2 l/100 l H ₂ O

Las dosis a utilizar fueron las que recomiendan los fabricantes de los productos. La aplicación de los extractos y de los insecticidas químicos se realizó el mismo día de coleccionados los insectos. Cada ensayo se realizó de forma separada, desarrollando un ensayo con tres repeticiones para cada insecto.

3.5.1 Características del insecticida Volaton

Estructura química:



Fórmula química: C₁₂H₁₅N₂O₂PS.

Peso molecular: 298.29 g/mol.

Información Técnica del Insecticida Volaton (Phoxim):

No. CAS: 14816-18-3. Código US EPA PC: 598800.

Nombre químico: α-Cianobencilidenaminoxifosfonotioato de O, O-dietilo.

Sinónimos: Baythion; 2-(dietoxifosfinotioiloxiimino)-2-fenilacetnitrilo; alfa-(((dietoxifosfinotioil)oxi)imino) bencenacetnitrilo; Bay 77488; Bay SRA 7502; alfa-(((dietoxifosfinotioil)oxi)imino)bencenacetnitrilo; cianuro de benzoil O-(dietoxifosfinotioil)oxima; ENT 27,488; Foksim; Foxim; Foxime; Glioxilonitrilofeniloxima fosforotioato de O,O-dietilo; fenilglioxilonitrilooxima fosforotioato de O, O-dietilo; Phoxim; Phoxime; Valexone.

Nombre comercial, Formulación (%), Presentación:

Para uso agrícola: Baythion 500 Ce, 48.800, concentrado emulsionable; Volaton 1.5 % g, 1.500, granulado; Volaton 2.5 % g, 2.500, granulado; Volaton 2.5% polvo, 2.500, polvo; Volaton 20% Premezcla, 20.000, Polvo Técnico; Volaton 5 % g, 5.000, Granulado; Volaton 5% P, 5.000, Polvo

Para uso Urbano: Blattanex Pipeta Hormiguicida, 50.000, Concentrado emulsionable

Para uso Industrial: Volaton Técnico, 85.000, Líquido Técnico

Para uso Pecuario: Sebacil Pour-On, 7.500, Líquido

Para uso Doméstico: Baygon Hormiguicida en Polvo, 3.000, Polvo

Tipo de plaguicida: Insecticida. Clasificación: Organofosforado

Uso: Agrícola, urbano, doméstico, industrial y pecuario.

Presentaciones comerciales: Agrícola: Para aplicación en el suelo: como granulado en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de: 15, 25 y 50 y como polvo en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de 25 y 50. Para tratamiento de semilla en la siembra: como concentrado emulsionable en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de 500. Para uso exclusivo en plantas formuladoras de plaguicidas agrícolas: como líquido técnico en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de 850 y como polvo técnico en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de 200. Doméstico: Para el control de hormigas: como polvo en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg o l) de 30. Pecuario: Para el control del ácaro en la sarna y piojos chupadores en cerdos: como líquido en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de 75. Urbano: Para uso exclusivo de aplicadores de plaguicidas en el control de hormigas: como concentrado emulsionable en equivalentes en gramos de ingrediente activo (i.a. /Kg ó l) de 574.

3.5.2 Propiedades físicas y químicas del Volaton.

Es un líquido que va de color amarillo a amarillo-café. Su punto de fusión está entre los 5 y 6 °C. Su solubilidad en agua es de 7 ppm a 20 °C. Es muy soluble en alcohol, cetonas, acetonitrilo e hidrocarburos, pero menos soluble en aceites vegetales y minerales. Su presión de vapor es cercana a 10⁻⁴ mm Hg a 27°C, cuando está puro. Se descompone cerca de su punto de ebullición a presión normal. Las formulaciones mal almacenadas de este plaguicida podrían provocar un olor a cianuro. Es estable en ácidos y aceites. Se hidroliza en soluciones alcalinas.

Peligrosidad a la Salud (etiqueta azul, moderada).

Inflamabilidad (rojo).

Riesgo de explosión (amarillo).

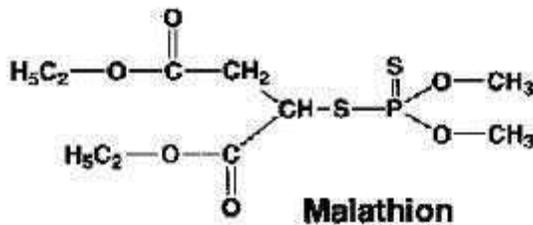
Persistencia: Poco persistente

Toxicidad para los organismos y el medio ambiente: Tipo toxicológico: IV.

Es extremadamente tóxico para crustáceos e insectos, altamente tóxico para aves y moderadamente tóxico para abejas y anfibios. Su toxicidad en peces varía de moderada a alta (Rosenstein, 1993).

3.5.3 Características del insecticida Malation

Estructura química:



Fórmula molecular: C₁₀H₁₉O₆PS₂.

Peso molecular: 330.3 g/mol.

Información Técnica del Insecticida Malathio:

No. CAS: 121-75-5

Nombre común: Malathion, Malation

Nombre químico: 2-[(Dimetoxifosforotioil) sulfanil] butanodioato de dietilo.

Química física: El grado técnico es un líquido claro.

Punto de ebullición: 156-157 °C /0.7 mm Hg, Solubilidad: 145 mg/l de agua a temperatura ambiente.

Solubilidad en otros solventes: petróleo ligero 35 g/100 g; miscible en la mayoría de los solventes orgánicos.

Punto de fusión: 2.8-3.7 °C.

Toxicidad: Cutáneo: LD₅₀ (24h) 4100 mg/Kg (conejo). Oral: 2800 mg/Kg DL₅₀ (rata). Irritación de ojo: El Malation puede causar lesión de ojo, irritación de piel (ruta leve, más probable de la entrada), activador de piel (contacto probable en conejillos de Indias).

Uso: El Malathion es un pesticida que se utiliza para matar insectos en cosechas agrícolas, en productos almacenados, en campos de golf, en los jardines caseros,

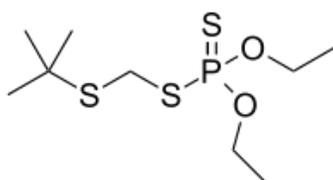
y en los sitios al aire libre en donde los árboles y los arbustos se crecen en el país; también se utiliza para matar mosquitos y las moscas del vinagre y del mediterráneo (medflies) en áreas al aire libre grandes.

Pureza técnica: 95 % Tech.

Tipo de la formulación: 57% EC, 50% EC (Rosenstein, 1993).

3.5.4 Características del insecticida Terbufos.

Estructura química:



Fórmula Molecular: C₉H₂₁O₂PS₃.

Peso Molecular: 288.43 g/mol.

Información Técnica del Insecticida Terbufos:

No. CAS: 13071-79-9

Nombre químico: S-(((1,1-dimetiletil)tio)metil) fosforoditioato de O, O-dietilo.

Sinónimos: S-(((2-metil-2-propanil)sulfanil)metil) fosforoditioato de O, O-dietilo; S-(((2-metil-2-propanil)sulfanil)metil) ditiofosfato de O, O-dietilo; Éster O, O-dietilo del ácido fosforoditioico, Éster O, O-dietilo del ácido S-(((1,1-Dimetiletil)tio)metil)fosforoditioico; Éster O, O-dietilo del ácido S-((tert-butiltio)metil)fosforoditioico; Éster O, O-dietilo del ácido S-(((1,1-dimetiletil)tio)metil)fosforoditioico; S-((tert-Butilsulfanil)metil) fosforoditioato de O, O-dietilo.

Solubilidad en agua: Insoluble.

Punto de inflamación: 147.1°C.

Punto de ebullición: 319.6°C a 760 mm Hg.

Punto de fusión: -29 °C.

Densidad: 1.154 g/cm³.

Símbolos de peligrosidad:



T+: muy toxico

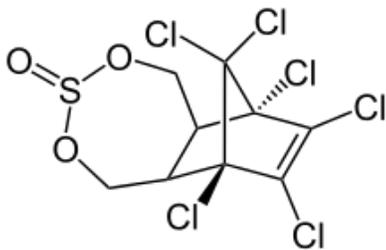


N: dañino para el medio ambiente

<http://www.chemnet.com/dict/dict--13071-79-9--es.html> (citado 06/02/2013).

3.5.5 Características del insecticida Endosulfan.

Estructura química:



Fórmula Molecular: C₉H₆Cl₆O₃S

Peso Molecular: 406.95 g/mol.

Información Técnica del Insecticida Endosulfan:

No. CAS: 115-29-7.

Nombre: Sulfito de 1,2,3,4,7,7-hexacloro-9,10-trinorborn-2-en-5,6-ilendimetilo.

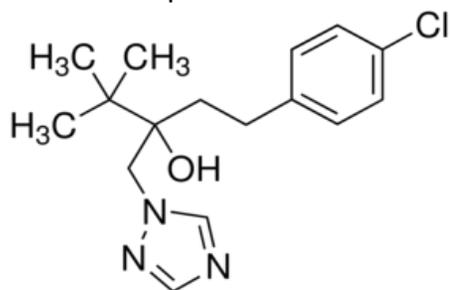
Sinónimos: 6,7,8,9,10,10-hexacloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahidro-6,9-metano-2,4,3-benzodioxatiepina-3-óxido; Benzoepin; Endocel; Parrysulfan; Phaser; Thiodan; Thionex.

El Endosulfan es un insecticida organoclorado no sistémico de amplio campo de acción, de gran persistencia y con gran actividad incluso sobre algunos ácaros; actúa por ingestión, contacto e inhalación, es residual y no penetrante. Afecta el sistema nervioso por inhibición antagónica del mesoinositol. Es el insecticida más utilizado para el control de "broca del café". Desde el punto de vista químico, está formado por una mezcla de dos estereoisómeros: α -endosulfan, con un 64 a 67 % de la composición técnica, y β -endosulfan, con un 29 a 32 % de la composición

técnica. Ambos componentes se degradan por oxidación formando el llamado ensodulfan sulfato (Lentza y Avramides, 2001; Rosenstein, 1993).

3.5.6 Características del fungicida Tebuconazole.

Estructura química:



Fórmula molecular: C₁₆H₂₂ClN₃O.

Peso molecular: 307.81 g mol/l.

Información Técnica del Insecticida Tebuconazole:

No. CAS: 107534-96-3

Grupo químico: Triazol

Nombre químico (IUPAC): (RS)-1-p-clorofenil-4,4-dimetil-3-(1H-1, 2,4-triazol-1-ilmetil) pentan-3-ol.

Sinónimos: Folicur 250 EC. (Rosenstein, 1993).

log P: 3.7 (20 °C.)

Solubilidad en agua: 36 mg/l (pH 5-9, 20 °C).

Clase toxicológica: III (moderadamente tóxico).

DL₅₀ oral-ratas machos: 4000 mg/Kg.

El Tebuconazole es un fungicida sistémico del grupo de los triazoles que tienen acción preventiva o curativa y es rápidamente absorbido por las partes vegetativas de la planta. Es de aplicación foliar y se usa en muchos cultivos como café, hortalizas y cereales para el control de hongos fitopatógenos.

3.6 Características de las plagas de insectos utilizadas en los ensayos

3.6.1 “Broca del café” (*Hypothenemus hampei*)

Entre las plagas de cultivos más importantes en Guatemala está la “broca del café”, que es un insecto del orden Coleóptera, familia: *Scolytidae*, especie: *Hypothenemus hampei*. La “broca” se encuentra en todas las zonas cafetaleras de Guatemala, afectando el rendimiento (conversión) y la calidad del café. La hembra inicia su perforación en la corona del grano, abre una galería en la semilla y deposita sus huevecillos. El mayor daño es causado cuando el grano está en estado de semiconsistencia, ofreciendo un sustrato adecuado para la ovoposición, alimentación de adultos y el desarrollo de los estados inmaduros (huevo, larva y pupas) del insecto. Este daño da como resultado la pérdida de peso del grano (ANACAFE, 1998; Hill, 2008). El insecto adulto se presenta en la Figura 3, es de color negro brillante, de cuerpo cilíndrico, ligeramente encorvado y cabeza en forma globular. El macho mide de 1.0 a 1.25 mm de largo, la hembra mide de 1.4 a 1.8 mm de largo, la larva es de color blanco lechoso y de consistencia blanda, mide 1.9 a 2.3 mm de largo (ANACAFE, 1998).



Figura 3: Broca del café en estado adulto utilizadas en los ensayos.
(Fotografía de Alarcón, 2012).

3.6.2 *Spodoptera frugiperda* (*Laphygma frugiperda*).

Nombres comunes: Gusano cogollero, gusano peludo, palomilla del maíz, gusano vainero.

Distribución: Estados Unidos, México, América Central, El Caribe y Sudamérica.

Hospedantes: Maíz, sorgo, arroz, caña de azúcar y zacates.

Ciclo de vida: Es un insecto Lepidóptero, holometábolo, el estado de huevo dura de 3 a 5 días, los ponen en grupos de 300 en cualquier superficie de la hoja. La larva dura de 14 a 21 días, pasa por 5 ó 6 estadios, mide de 35 a 40 mm cuando está madura. Las larvas pupan en el suelo, raramente veces en las hojas del huésped. La pupa dura de 9 a 13 días. El adulto es una palomilla de color gris a gris-pardo (ciclo biológico, figura 4).

Daño: En grandes densidades las larvas pueden matar a matas jóvenes de maíz por defoliación o destruir los puntos en crecimiento (perfora el cogollo de hojas), en las plantas mayores hay defoliación y retraso del crecimiento, los tallos aparecen cortados o minados (Saunders, Coto y King, 1998).

Control: Se recomienda aplicar productos organofosforados como el Phoxim directamente a las plantas infestadas, cuando el 5% o más de las plántulas son cortadas o cuando el 20% o más cogollos están infestados en los primeros 30 días de emergencia de las plantas o previo a la floración.

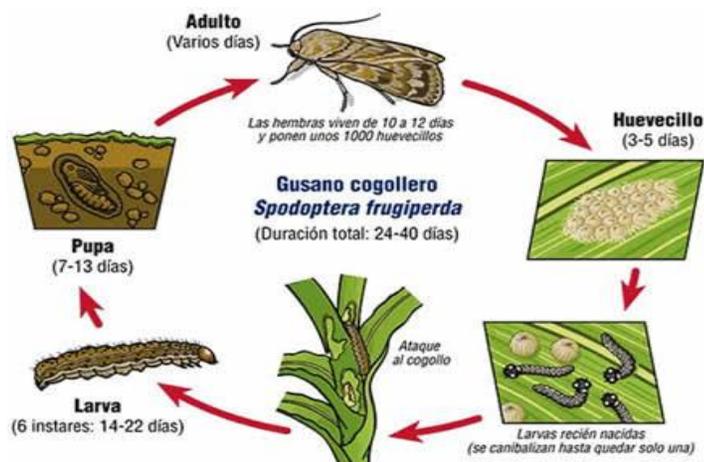


Figura 4. Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* en maíz. (Tomado de Bayercropscience, 2002).

3.6.3 “Gallina ciega” (*Phyllophaga spp.*)

Nombres comunes: gallina ciega, joboto, jogoto, chobote, orontoco, chorontoco, abejón de mayo, chicote mayate, ronrón.

Distribución: Varias especies dañinas desde Estados Unidos hasta Sudamérica.

Hospedantes: Maíz, sorgo, arroz, frijol, papa, tomate, café, caña de azúcar, pastos, entre otros.

Ciclo de vida: Estos insectos son holometábolos, los ronrones ovipositan en el suelo a 2 a 10 cm de profundidad, este estado dura de 10 a 14 días, la larva puede completar el ciclo en un año (*P. menetries* dura de 8 a 9 meses). La larva pupa en el suelo y vive durante 21 a 35 días. El adulto es un ronrón o abejón grande o mediano pardo-oscuro o naranja-pardo, emergen y vuelan poco después de las primeras lluvias del año y son atraídas por la luz artificial.

Daño: Las larvas comen las raíces de las plantas causando daño principalmente durante el segundo estadio (figura 5), la distribución del daño es característicamente parchosa y generalmente confinada a los meses de junio a octubre. A menudo las infestaciones son localmente severas (Saunders, et al. 1988).

Control: Uno de los insecticidas químicos más utilizados que se aplica al pie de la planta es el Terbufos.



Figura 5. Larvas de *Phyllophaga sp.*, usadas en el bioensayo. (Fotografía de Alarcón, 2011).

3.6.4 “Trips de los Ficus” (*Gynaikothrips ficorum*).

Este insecto es conocido como el “trips del ficus”, es una especie frecuente sobre *Ficus benjamina* en la cual produce un enrollamiento típico en las hojas, en el interior de la hoja se desarrolla la colonia de “trips”. La especie *G. ficorum* es de tamaño grande (mayor de 2.5 mm), coloración negra y abdomen terminado en un tubo largo, propio de “trips Tubulífera” (Figura 6).

Biología: Este “trips” se refugia en las hojas, ramitas y entre la corteza del tallo en galerías o entre las vainas o verrugas que forma en las hojas. Se alimenta en el haz y el envés de la hoja. La postura de huevos y el estado de pupa se desarrolla en las hojas envainadas. Se mantienen ocultos y presentan hábitos gregarios viéndoseles agrupados en gran número dentro de las hojas.

Daños: Los “trips” pican las hojas, yemas, ramas tiernas y flores. Las picaduras inyectan toxinas que provocan deformación de las hojas en esta especie ornamental, bajando la calidad y sanidad de la planta (Figura 6).

Control: Los productos recomendados son Dimetoato, Formotion, Malation o Endosulfan. El tratamiento se recomienda realizar a formas juveniles, especialmente en días soleados, que es cuando los “trips” están más activos (García et al., 1994).



Figura 6. Daños en hojas de ficus y adulto de *Gynaikothrips ficorum*. (Tomado de García et al., 1994).

3.6.5 “Mosca del Mediterráneo” (*Ceratitis capitata* W.).

Este insecto es holometábolo y pertenece al orden Díptera, familia Tephritidae, especie *Ceratitis capitata*.

Biología: El insecto adulto es una mosca que mide de 4 a 5 mm de longitud (figura 7). Las hembras se dirigen a los frutos para realizar la postura de los huevecillos, atraídas por el olor y color, prefieren el amarillo y naranja. Las hembras clavan el ovopositor hasta una profundidad de 2 mm y depositan entre 5 y 10 huevos. Después van a otros frutos pudiendo realizar varias puestas hasta un número de 300-400 huevos. Los huevos eclosionan a los 2 días cuando la temperatura es favorable. Las larvas son blanco amarillentas y viven de 6 a 11 días. Los frutos atacados caen al suelo y la larva pupa en la tierra a una profundidad de 1 a 2.5 cm. La pupa es de color marrón y lisa de la pupa emerge el adulto en circunstancia propicias entre 6 y 15 días. En climas suaves la *Ceratitis* puede completar de 6 a 8 generaciones.

Daños: La picadura de la hembra produce un pequeño orificio en la superficie del fruto y forma una mancha amarillo pálida. La herida es una vía de entrada de microorganismos que provocan la pudrición del fruto. Las larvas excavan galería en los tejidos internos de éste, aumentando la descomposición y provocando la caída al suelo.

Control: Uno de los métodos de tratamiento recomendados es la aplicación de Malation 50 EC. (Alfaro, 1998). También está el uso de trampas con feromonas; las prácticas culturales como el entierro de frutos enfermos y la cosecha total de frutos.



Figura 7. Fotografía de macho y hembra de “moscas del mediterráneo”.
(Fotografía de Alarcón, 2011).

3.7 Características de los hongos utilizados en los ensayos.

3.7.1 Características de *Aspergillus sp.*

Es un hongo muy abundante en la naturaleza, los conidióforos son simples en la parte superior, terminan con una forma globosa o clavada, las fiálides rodean el ápice del conidióforo en forma radial en toda la superficie de la cabezuela (figura 8), los conidióforos tienen conidias de una sola célula globosa, a veces de varios colores y en masa. Las conidias forman cadenas y se producen basipetalmente. Es una especie muy abundante que puede ser saprofítica sobre una amplia variedad de sustratos, también existen varias especies fitopatógenas (Barnett, 1960).



Figura 8. Conidióforo, conidias y micelio de *Aspergillus sp.*
(Tomado de Barnett, 1960).

3.7.2 Características de *Alternaria sp.*

Es un hongo patógeno que usualmente ataca tejidos de plantas viejas y requiere periodo de alta humedad relativa y temperatura de 16 a 20 °C para iniciar la infección. Las conidias se producen formando abundantes cadenas sobre la superficie de las lesiones. Los conidióforos se producen solitarios o en grupos y pueden ser ramificados; las conidias tienen muchas septas transversales y longitudinales, pueden ser producidas en cadenas de dos a tres conidias (figura 9). Generalmente presentan cicatrices a manera de puntos negros en los sitios donde se produjeron las conidias (Castaño y Del Rio, 1994).



Figura 9. Conidias, conidióforos y micelio de *Alternaria sp.*
(Tomado de Castaño y Del Rio, 1994).

3.7.3 Características de *Fusarium sp.*

Es un hongo fitopatógeno que produce marchitez vascular, debido a que el patógeno se aloja en el xilema. El hongo produce tres tipos de esporas asexuales en cultivo: microconidias, macroconidias y clamidosporas. Las microconidias son rectas o curvadas, hialinas, unicelulares, pequeñas y de forma oval a elipsoidal, son producidas en fiálides laterales unicelulares cortas; las macroconidias también son hialinas, con tres a cinco septos, semejando una luna en cuarto creciente por su forma curvada con en el centro y fina en los extremos; las clamidosporas se

producen solas o en pares, de forma intercalar o en ramificaciones laterales cortas, son estructuras de sobrevivencia del patógeno y tienen forma redonda y paredes delgadas (Castaño y Del Rio, 1994).



Figura 10. Micelio y conidias de *Fusarium* sp.
(Tomado de Castaño y Del Rio, 1994).

3.7.4 Características de *Curvularia* sp.

Es un hongo que produce conidióforos oscuros y simples, a veces ramificados y sostienen una o varias conidas en la parte terminal. Las conidias son oscuras usualmente rectas o ligeramente curvadas con un hilum protuberante y terminan en células más claras en los ápices, tienen de 3 a 5 células, más o menos fusiformes, típicamente con ápice o curvadas, con una o dos células agrandadas en la parte central, parasita o saprofita (Barnett, 1960; Castaño y Del Rio, 1994).



Figura 11. Conidióforos, conidias y micelio de *Curvularia* sp.
(Tomado de Castaño y Del Rio, 1994).

3.8 Ensayos de actividad insecticida realizados en Mazatenango, Guatemala.

Se estableció como “actividad insecticida”, el efecto de los extractos para matar insectos.

3.8.1 Aplicación de los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”.

Los extractos de hojas y flores fueron diluidos en una mezcla de etanol:agua al 25%. El extracto fue aplicado en dosis de 0.5 mg/ml, 1.0 mg/ml y 1.5 mg/ml de solución, preparando 250 ml de cada una. Primero, se realizó la disolución del extracto en una solución etanol-agua al 25%, posteriormente se finalizaron las preparaciones en las concentraciones establecidas, tomando en cuenta que la relación definida para ensayos de actividad es de 1 mg de extracto por cada ml de solución. Las soluciones preparadas de extractos de hojas se presentan en la figura 12.

Para el testigo relativo se aplicaron los insecticidas químicos en dosis recomendada por el fabricante, éstos se presentan en el cuadro 3. Como testigo absoluto se usó la aplicación de etanol más agua destilada al 25 % en volumen. Las diluciones se aplicaron con un atomizador sobre los insectos, los cuales se colocaron en bandejas de plástico de 15 x 8 x 6 cm o cajas Petri para insectos más pequeños. Los ensayos con insectos se realizaron en el laboratorio de Entomología del Centro Universitario de Suroccidente, con sede en Mazatenango, Suchitepéquez, Guatemala.

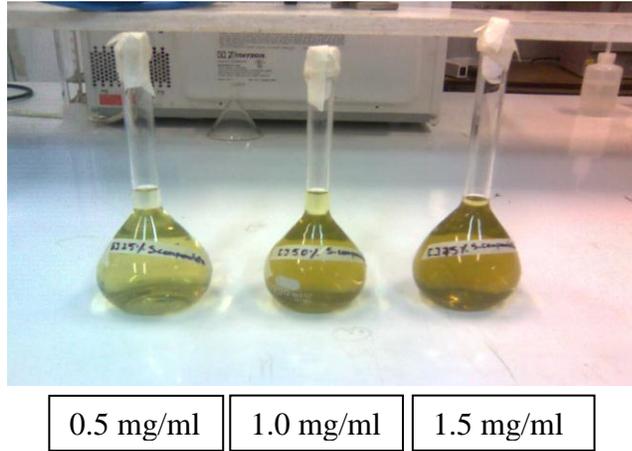


Figura 12. Soluciones preparadas de extractos de hojas.
(Fotografía de Alarcón, 2010).

3.8.2 Diseño experimental.

El diseño utilizado en los ensayos fue un completamente al azar, tomando en cuenta que todos los tratamientos tuvieron las mismas condiciones de laboratorio. Se establecieron 5 tratamientos para cada uno con tres repeticiones.

3.8.3 Tratamientos, repeticiones y unidades experimentales.

Al definir las dosis a evaluar y agregar los testigos, se formaron los cinco tratamientos que se presentan en el cuadro 4. Se utilizaron 15 unidades experimentales conformadas por cinco tratamientos y tres repeticiones en los ensayos, uno con extractos de hojas y el otro con flores del árbol de “Llama del bosque”. Por cada unidad experimental en los diferentes ensayos, se utilizaron 10 insectos de “broca” adultos, 15 “moscas de la fruta” adultas u 8 “trips”. La variación en el número de insectos por unidad experimental por ensayo fue por la disponibilidad de insectos vivos.

Cuadro 4. Tratamientos utilizados en los ensayos.

Tratamientos	Descripción
T1	Extracto a 0.5 mg/ml de hojas o flores de "Llama del bosque"
T2	Extracto a 1.0 mg/ml de hojas o flores de "Llama del bosque"
T3	Extracto a 1.5 mg/ml de hojas o flores de "Llama del bosque"
T4	Testigo Relativo (Insecticidas químicos comerciales)
T5	Testigo Absoluto (etanol-agua al 25%)

3.8.4 Toma de lecturas de los ensayos.

Las lecturas se tomaron a las 4, 8, 12, 24, 36 y 72 horas después de la aplicación de los extractos y testigos, según la mortalidad observada en los tratamientos. Los insectos fueron tocados levemente con un pincel para conocer su condición (muertos o vivos); además, se utilizó una lupa para observar si presentaban movimiento o cambio de comportamiento. En los mismos intervalos de tiempo se determinaron cambios de conducta de los insectos, en relación a si éstos se alimentan, si se movilizan hacia las paredes de la bandeja o se esconden debajo de las hojas y dejan de comer la dieta, permanecen casi inactivos o si están formado puparios.

3.8.5 Variables de respuesta evaluadas

La variable elegida para los respectivos análisis fue el número acumulado de insectos muertos contados a las 4, 8, 12, 24, 36, 48 y 72 horas después de la aplicación de los tratamientos, según las observaciones de los ensayos en el laboratorio. También se registró el porcentaje de mortalidad acumulado de insectos.

3.8.6 Transformación de datos y análisis estadísticos.

Los datos de número de insectos muertos fueron transformados mediante las fórmulas de arcoseno y ($\sqrt{x + 0.5}$), posteriormente se realizaron análisis de varianza (ANDEVA) y prueba de medias de Tukey, siempre que las medias hayan presentado diferencias entre tratamientos al 5 % de significancia, para determinar los tratamientos con los mejores resultados del efecto insecticida de los extractos.

3.8.7 Registro de insectos muertos en las flores de “Llama del bosque”.

En el periodo de la floración de los árboles de “Llama del bosque” en los departamentos de Suchitepéquez y Retalhuleu, se registró y cuantificó a los insectos encontrados muertos en la flores, éstos fueron identificados por órdenes y familias.

3.9 Actividad repelente de “Llama del bosque”.

Se estableció como “actividad repelente” el efecto de una sustancia que se utiliza para repeler a ciertos animales.

3.9.1 Preparación de materiales de “Llama de bosque”.

Para este ensayo se utilizaron hojas y flores frescas de “Llama del bosque”, éstas fueron cortadas en partes de aproximadamente 0.5 cm² con una tijera. Para evitar el contacto directo con el material se utilizaron guantes de caucho. El material fresco de hojas y flores se utilizó para evaluar su efecto repelente de plagas de insectos de granos almacenado como el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*.

3.9.2 Ensayo con vasos plásticos.

Se perforaron vasos plásticos transparentes de 11 cm de altura y 9 cm de diámetro, con 16 líneas de 10 perforaciones de 3 mm de diámetro, cada fila separada un 1 cm alrededor del vaso y cada perforación separada a 0.5 cm, el fondo del vaso se cubrió con malla plástica transparente de 2 ml de enrejado, con el objeto de colocar granos de maíz y favorecer la salida de los gorgojos por los hoyos perforados o la malla del fondo. El vaso perforado se colocó sobre otro vaso 7 cm de altura y 7.5 cm de diámetro. El segundo vaso se colocó en una tapa de placa Petri de vidrio (ver figura 13).



Figura 13. Equipo utilizado para ensayo de repelencia de *Sitophilus zeamais* con "Llama del bosque".
(Fotografía de Alarcón, 2011).

3.9.3 Diseño experimental.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 3 tratamientos y 8 repeticiones, se colocaron 20 "gorgojos" adultos de *Sitophilus zeamais* por cada unidad experimental en 100 g de granos de maíz pozolero *Zea mays*. El ensayo se

realizó en túnel de vidrio del laboratorio de Ecología química de insectos tropicales de ECOSUR, a una temperatura de 27 ± 1 °C y 67 ± 10 % de humedad relativa.

3.9.4 Procedimiento.

En principio se esterilizó el maíz pozolero durante 40 minutos a 1 atmósfera de presión en autoclave (121 °C.). El maíz esterilizado se pesó y se colocaron 100 g de granos con 1 g de hojas o de flores picadas de “Llama de bosque”. Posteriormente se mezclaron para cada tratamiento hojas o flores con los 100 g maíz en cada vaso perforado de cada unidad experimental. Al testigo solo se aplicó el maíz, bajo las mismas condiciones mencionadas.

Los “gorgojos” se infestaron a cada vaso mediante un embudo de vidrio de 20 cm de largo, con el objeto de que se liberaran en la parte central de los granos contenidos en el vaso perforado. Después de liberar a los “gorgojos” se tapó el vaso y se inició la colecta de los mismos que salían del vaso perforado por el efecto repelente de las hojas o de las flores, previamente colocados con el maíz.

3.9.5 conteo de insectos y análisis estadísticos.

Los “gorgojos” que salieron de los vasos perforados y los que se atraparon en el vaso inferior fueron contados a 1, 2 y 17 horas después de ser liberados. A cada lectura del número acumulado de insectos escapados, se realizó un ANDEVA y una prueba de medias de Tukey al 5% de significancia, si es que existían diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. También se calculó el porcentaje acumulado de insectos escapados de los vasos.

3.10 Actividad insecticida de “Llama del bosque”.

3.10.1 Diseño experimental.

El diseño experimental utilizado fue un completamente al azar, 3 tratamientos y 3 repeticiones; se colocaron 10 “gorgojos” adultos de *Sitophilus zeamais* sobre papel filtro Watman # 1 en una placa Petri. Las condiciones experimentales fueron las mismas que en el ensayo de repelencia, realizado en el laboratorio de Ecología Química de ECOSUR.

3.10.2 Procedimiento.

En el ensayo se evaluaron tres concentraciones de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”. Las concentraciones evaluadas fueron 1, 1.5 y 2 mg de extracto/ml de solución. Como disolvente se utilizó una mezcla al 25% agua destilada y etanol. Cada solución de extracto se dosificó en 2 ml por caja Petri mediante un aspersor de polipropileno de 200 ml de capacidad.

3.10.3 Cuento de insectos y análisis estadísticos.

En este ensayo se llevó registro del número acumulado de “gorgojos” muertos a 1, 2, 6 y 12 horas después de la aplicación de los extractos. A cada lectura se realizó un ANDEVA y una prueba de medias de Tukey al 5% de significancia, si existían diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos. Los datos fueron transformados utilizando la fórmula de $(X + 1)^{1/2}$. También se calculó el porcentaje de mortalidad acumulado de gorgojos.

3.11 Efecto fungistático de extractos de “Llama del bosque” en hongos fitopatógenos.

Se han establecido las siguientes definiciones:

- a) “Efecto fungistático”: actividad de una sustancia que inhibe el crecimiento de hongos.
- b) “Fitopatógeno”: Microorganismos como hongos, bacterias, virus, etc., que causan enfermedades en las plantas.
- c) “Fungicida”: agente que mata a los hongos.

3.11.1 Ensayos de laboratorio.

Se evaluó el efecto de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” en dos concentraciones: 5 mg/mL y 10 mg/mL en discos de papel Watman # 5 de 5 mm de diámetro cada uno, colocando dos discos equidistantes sobre el medio de cultivo PDA (papa, dextrosa y agar). Los hongos fitopatógenos con los cuales se realizaron los ensayos fueron: *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.* y *Curvularia sp.* Como testigo absoluto se usó agua destilada-etanol al 25% y como testigo relativo el fungicida Tebuconazole (Folicur 250 EC) en dosis comercial de 0.75 l/Ha. La temperatura de incubación fue de 25 °C.

3.11.2 Número de ensayos y toma de datos.

Se realizaron dos ensayos con las mismas especies de hongos y las mismas concentraciones, uno el 6 de junio del 2011 y el otro el 8 de junio del 2011. La variable a medir fue la distancia en cm del borde de la colonia del hongo fitopatógeno inoculado en el medio de PDA, hasta el borde del disco impregnado de extracto de “Llama del bosque” o los discos del testigo absoluto y relativo. Las lecturas de la distancia del borde de la colonia del hongo a los discos, se midió a las 24, 48 y 72 horas después de colocados los discos con extractos o testigos y el inóculo del hongo en la parte central de la placa Petri con PDA.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Obtención de extractos de hojas y flores.

En el laboratorio de LIPRONAT se procesaron hojas y flores con etanol al 95%. El rendimiento del extracto de hojas secas fue de 8.61%; esto se obtuvo de un peso inicial de 200 gramos de hojas secas y 17.22 g de extracto de hojas. En el caso de las flores, al final del proceso se obtuvieron 11.77 g de extracto a partir de 74.1184 g de flores secas, lo que representa un rendimiento del 15.88 %, indicando una mayor concentración de compuestos orgánicos en las flores.

4.2 Colecta e identificación de insectos muertos en las flores de “Llama del bosque”

Se realizaron muestreos en dos sitios diferentes en árboles en floración de “Llama del bosque”. Los insectos colectados fueron preservados en alcohol etílico al 70 % y se identificaron en el laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía de la USAC. Las muestras se colectaron el 19 de agosto y el 22 de noviembre del 2010. Los resultados se presentan en el primer informe de diagnóstico de laboratorio de Entomología (cuadro 5). Las abejas meliponas fueron identificadas en el centro de estudios conservacionistas de la USAC, los resultados se presentan en el informe de diagnóstico del Centro de Estudios Conservacionistas (CECON) de la USAC. Las abejas meliponas identificadas pasaron a formar parte de la colección de biodiversidad de abejas nativas del CECON. Entre los insectos colectados la mayoría corresponden a abejas meliponas 71% (47 de los 66 insectos colectados), este resultado es menor del que se reporta en las investigaciones de Trigo y Santos (2000), que encontraron un 97% de abejas meliponas en una muestra de 345 insectos encontrados muertos dentro de las flores de “Llama del bosque”. Desde el punto de vista eco-toxicológico no sería recomendable plantar árboles de “Llama del bosque” cerca de apiarios, ni de

cultivos que demanden alta polinización por abejas como melón y otras cucurbitáceas, tomate o especies frutales; sin embargo, en las cercas vivas y barreras rompe vientos y áreas erosionadas podría ser una buena alternativa establecer plantaciones de “Llama del bosque”. También debe considerarse que las pruebas evaluadas fueron con aplicaciones de extractos de hojas y flores y no de néctar o mucílago con en el ensayo de Trigo y Santos (2000). Los insectos restantes de las muestras fueron en su mayoría insectos plagas de cultivos, forestales y frutales como las “chicharritas” (crisomélidos), “tijeretas” (forficuláridos), “gorgojos de árboles” (scolytidos), “moscas agalladoras” (sciáridos), “escamas” (pseudocóccidos) y “moscas del Mediterráneo” (tephrítidos), lo cual confirma el potencial del uso de extractos de flores y hojas para el control de plagas de insectos de cultivos en Guatemala.

4.3 Ensayos de aplicación de extractos a “broca del café”

4.3.1 Evaluación de la mortalidad de brocas del café al aplicar extractos de hojas de “Llama del bosque”.

En el Cuadro 6 se presentan los porcentajes de mortalidad de brocas del café en sus diferentes lecturas. En la lectura a las 24 horas de la aplicación, había muerto el total de “brocas” con el insecticida Endosulfan (T4) y solo el 10% de brocas en el control negativo (T5). En los tratamientos con los extractos, la mortalidad aumentó al utilizarse una mayor concentración de éstos, alcanzando el 60% en el tratamiento H3. A las 48 horas se incrementó la mortalidad de “brocas” al 50% en los tratamientos H1 y H3. A las 72 horas la mortalidad acumulada de “brocas” fue de 60, 70 y 80% en los tratamientos H1, H2 y H3, respectivamente, mientras que la menor mortalidad de “brocas” se reportó en el control negativo (etanol-agua 25%), con un 20%. El Endosulfan es el insecticida químico más utilizado para el control de “broca del café” por su rápida efectividad (ANACAFE, 1998), sin embargo, a nivel de laboratorio los extractos de hojas a 1.5 mg/ml presentaron una

mortalidad del 80%. La otra fase de investigación sería su evaluación a nivel de invernadero y de campo.

Cuadro 6: Mortalidad de “brocas del café” después de la aplicación de extractos de hojas de “Llama del bosque”.

Tratamientos	Lectura a las 24 h.	Lectura a las 48 h.	Lectura a las 72 h.
	Mortalidad %	Mortalidad %	Mortalidad %
H1	30	50	60
H2	60	60	70
H3	30	50	80
T4	100	100	100
T5	10	10	20

Referencias: H1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, H2: Extracto hojas 1 mg/ml, H3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Endosulfan 35 EC, T5: Etanol +Agua al 25%.

El ANDEVA de los datos transformados del número acumulado de brocas del café muertas se presenta en el cuadro 7 de anexos. Según este estudio, se observa que estadísticamente existen diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados de la prueba de medias Tukey se presentan en el cuadro 8.

Cuadro 8. Prueba de Tukey para “brocas” muertas a las 72 horas.

TRATAMIENTO	MEDIA
T4	3.2400 A
H3	2.8900 A
H2	2.7600 AB
H1	2.5100 AB
T5	1.6767 B

Referencias: H1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, H2: Extracto hojas 1 mg/ml, H3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Endosulfan 35 EC, T5: Etanol +Agua al 25%.

En este cuadro 8 se observa que el tratamiento número tres (extracto de hoja a 1.5 mg/ml) y el tratamiento cuatro (Endosulfan) poseen una media similar. Las medias son 2.89 y 3.24, respectivamente, y se representan a un mismo nivel con

la letra A, según prueba estadística de Tukey, por lo tanto producen estadísticamente el mismo efecto de mortalidad a las 72 horas después de aplicarlo a la “broca de café”. Con este último resultado se comprueba que los extractos de hojas de “Llama del bosque” a 1.5 mg/ml tienen un efecto estadísticamente similar al insecticida Endosulfan 35 EC a las 72 horas después de la aplicación.

4.3.2 Evaluación de la mortalidad de “brocas del café” al aplicar extractos de flores.

La mortalidad de la “broca del café” en porcentaje por acción del extracto de flores de “Llama del bosque” se observa en el Cuadro 9. A las 24 horas de la aplicación; así, la mortalidad de las “brocas del café” fue del 100% con el Endosulfán (T4), también con los tratamientos de extractos F2 y F3 y para el caso del F1 fue del 70%. Esto indica que los extractos de flores tuvieron mayor efecto insecticida en menos tiempo comparado con los extractos de hojas. A las 48 y 72 horas de la aplicación se tuvo el mismo resultado de mortalidad que a las 24 horas, la mayor parte de “brocas” vivas solo estaban en el testigo absoluto (T5), por lo que se concluyó el ensayo.

Cuadro 9: Mortalidad de brocas del café después de la aplicación de extractos de flores de “Llama del bosque”.

Tratamientos	Lectura a las 24 h.	Lectura a las 48 h.	Lectura a las 72 h.
	Mortalidad %	Mortalidad %	Mortalidad %
F1	70	70	70
F2	100	100	100
F3	100	100	100
T4	100	100	100
T5	25	40	40

Referencias: F1: Extracto flores 0.5 mg/ml, F2: Extracto flores 1 mg/ml, F3: Extracto flores 1.5 mg/ml, T4: Endosulfan 35 EC, T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

En el cuadro 10 de anexos se presenta el análisis de varianza de la lectura de “brocas del café” muertas y acumuladas a las 24 horas después de haber aplicado los tratamientos respectivos. Con base en los resultados, se determinó que estadísticamente existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

Con lo anterior, se realizó una prueba múltiple de medias con el fin de determinar el mejor o los mejores tratamientos, dicha prueba se presenta en el cuadro número 11, en donde se muestra que, según la prueba de Tukey, todas las medias de los tratamientos con extracto de flores a diferentes concentraciones son similares y estadísticamente iguales, lo que significa que si se quiere utilizar este extracto al 0.5, 1.0 o 1.5 mg/ml, éstos producen la misma mortalidad en “brocas del café” que la que produciría el insecticida Endosulfan, siendo todas diferentes al testigo absoluto.

Cuadro 11. Prueba de medias Tukey, para “brocas” muertas a las 24 horas.

TRATAMIENTO	MEDIA	
F2	2.3452	A
F3	2.3452	A
T4	2.3452	A
F1	2.0159	A
T5	1.5236	B

Referencias: F1: Extracto flores 0.5 mg/ml, F2: Extracto flores 1 mg/ml, F3: Extracto flores 1.5 mg/ml, T4: Endosulfan 35 EC, T5: Etanol +Aguá al 25%.

Por lo anterior, los extractos de flores evaluados a nivel de laboratorio fueron igual de efectivos que el Endosulfan, por lo que en futuras investigaciones se propone realizar evaluaciones de estos extractos a 1.0 y 1.5 mg/ml a nivel de invernadero y de campo para el control de la “broca del café”, con el objetivo de determinar si realizan el mismo efecto insecticida.

En otras investigaciones de control de “broca del café”, Chapilliquen, 2000, evaluó cinco insecticidas sintéticos y tres preparados de plantas de forma artesanal. Los

mejores tratamientos a nivel de laboratorio fueron el Oikoneem y la infusión de tabaco. A nivel de campo también tuvo el mayor efecto el Oikoneem, seguido de Agrosan y tabaco, el promedio de granos brocados en la quinta evaluación fue de 5.97%, comparado con el testigo que fue del 26.03 %.

4.4 Ensayos de aplicación de extractos a “moscas del Mediterráneo”

4.4.1 Evaluación de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” al aplicar extractos de hojas.

La mortalidad en “moscas del Mediterráneo” se evaluó en tres lecturas, a las 24, 48 y 72 horas, en un ensayo con 3 repeticiones. En cada repetición se utilizaron 15 moscas en placas Petri, con dieta de agua, azúcar y benzoato de sodio. El testigo relativo fue Malation 57 EC y el testigo absoluto agua-alcohol al 25% en volumen.

En el cuadro 12 se presentan los datos de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” después de la aplicación de los extractos de hojas. A las 24 horas la mayor mortalidad la presentó el Malation 57 EC (T4), seguido del tratamiento de mayor concentración de extracto de hojas (H3); en el testigo absoluto (T5) la mortalidad solo fue de 6.67 % de moscas en dos repeticiones. A las 48 horas siguió casi el mismo comportamiento de la mortalidad y solo se incrementó en los tratamientos de extractos y en menor cantidad en el testigo absoluto. A las 72 horas sobrevivían de 53.33 a 73.33% de moscas en el testigo absoluto y de 13.33 a 40% en los tratamientos H1 y H2. El extracto en su mayor concentración (H3) fue tan efectivo como el insecticida Malation 57 EC.

En el cuadro 13 de anexos se puede observar el resultado del análisis de varianza realizado al número de “moscas del Mediterráneo” muertas a las 72 horas. En ese

mismo cuadro, se encuentran diferencias altamente significativas entre tratamientos, por lo que fue necesario realizar la prueba de medias con Tukey; los resultados obtenidos de esta prueba se presentan en el cuadro 14.

El cuadro 14 evidencia que al cabo de 72 horas después de las aplicaciones, los mejores tratamientos que causaron la más alta mortalidad siguen siendo con Malation 57 EC (T4), lo que se fundamenta en la recomendación técnica de control químico de este insecto por Alfaro (1998). El extracto a 1.5 mg/ml (H3) y extracto a 1 mg/ml (H2) también presentan un buen valor de la media, en donde cabe mencionar que para esta lectura los tres tratamientos han provocado la mortalidad del 90% de “moscas del Mediterráneo”.

Cuadro 12. Datos de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” después de la aplicación de extracto de hojas.

Tratamiento No.	Unidad Experimental	Total de insectos	Lectura a las 24 h.		Lectura a las 48 h.		Lectura a las 72 h.	
			Insectos Vivos	Insectos muertos	Insectos Vivos	Insectos muertos	Insectos Vivos	Insectos muertos
1	T5R1	15	15	0	13	2	11	4
2	H2R2	15	4	11	3	12	2	13
3	H1R1	15	12	3	9	6	6	9
4	H3R3	15	3	12	1	14	0	15
5	T4R2	15	4	11	1	14	0	15
6	H2R1	15	5	10	3	12	0	15
7	H3R1	15	4	11	2	13	1	14
8	H1R2	15	10	5	9	6	6	9
9	H4R1	15	1	14	0	15	0	15
10	T5R3	15	14	1	12	3	10	5
11	H2R3	15	3	12	1	14	0	15
12	T4R3	15	3	12	0	15	0	15
13	H1R3	15	11	4	7	8	5	10
14	H3R2	15	2	13	0	15	0	15
15	T5R2	15	14	1	10	5	8	7

Referencias: H1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, H2: Extracto hojas 1 mg/ml, H3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Malation 57 EC, T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

Cuadro 14. Prueba de medias de Tukey para moscas muertas a las 72 horas.

TRATAMIENTO	MEDIA
T4	3.9400 A
H3	3.8967 A
H2	3.8500 A
H1	3.1333 B
T5	2.4033 C

Referencias: H1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, H2: Extracto hojas 1 mg/ml, H3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Malation 57 EC, T5: Etanol +Agua al 25%.

4.4.2 Evaluación de la mortalidad de “moscas del Mediterráneo “al aplicar extractos de flores.

En el cuadro 15 se presentan las lecturas de moscas muertas realizadas a las unidades experimentales del ensayo de aplicaciones de extracto de flores y sus respectivos testigos, bajo las mismas condiciones experimentales presentadas anteriormente. En este ensayo se presentan únicamente los resultados de la última lectura por ser la más representativa, ya que en las lecturas a las 24 y 48 horas no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

En este ensayo los resultados obtenidos a las 72 horas fueron de una alta mortalidad para todos los tratamientos, incluyendo el testigo absoluto en el cual la mayor sobrevivencia fue del 40 % de moscas. En el cuadro 16 en anexos, se presentan los resultados del análisis de varianza sobre la mortalidad de “moscas del mediterráneo” a las 72 horas de la aplicación de los extractos de flores. En este cuadro se establece que estadísticamente no existe diferencia significativa entre los tratamientos evaluados, ya que el valor de $P > F$ (0.102) es mayor que el nivel de significancia al 5%. Por lo tanto, desde este punto de vista pareciera que todas las medias de todos los tratamientos son similares y que no existe diferencia

estadística entre alguno de ellos. Para apreciar mejor estos resultados, en el cuadro 17 se presentan las medias de cada uno de los tratamientos evaluados.

Al observar la medias de la mortalidad de “moscas del Mediterráneo, se concluye que los tratamientos de extracto de flor a 1.5 mg/ml (F3) y el tratamiento Malation 57 EC (T4) mataron a la totalidad de población de “moscas del Mediterráneo” evaluadas; por lo tanto, el mejor efecto insecticida sobre las moscas fue la concentración de 1.5 mg/ml de extracto de hoja, ya que éste produce el mismo efecto que un insecticida comercial y de uso común (Malation 57 EC) que se recomienda para control químico de la “mosca del Mediterráneo” (Alfaro, 1998).

Cuadro 15. Datos de mortalidad de “moscas del Mediterráneo” después de la aplicación de extractos de flores.

Tratamiento No.	Unidad Experimental	Total de insectos	Lectura (72 h)	
			Insectos Vivos	Insectos muertos
1	F2R3	10	2	8
2	F3R1	10	0	10
3	T4R3	10	0	10
4	F1R1	10	2	8
5	T5R2	10	4	6
6	F2R1	10	0	10
7	F3R3	10	0	10
8	T4R2	10	0	10
9	F1R3	10	3	7
10	T5R1	10	1	9
11	F3R2	10	0	10
12	T4R1	10	0	10
13	F2R2	10	2	8
14	T5R3	10	2	8
15	F1R2	10	0	10

Referencias: F1: Extracto flores 0.5 mg/ml, F2: Extracto flores 1 mg/ml, F3: Extracto flores 1.5 mg/ml, T4: Malation 57 EC, T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

Cuadro 17. Medias del número de moscas muertas a las 72 horas después de la aplicación del extracto de flores a diferentes concentraciones.

TRATAMIENTO	MEDIA
F3	3.24040
T4	3.24040
F2	3.02380
F1	2.96483
T5	2.84906

Referencias: F1: Extracto flores 0.5 mg/ml, F2: Extracto flores 1 mg/ml, F3: Extracto flores 1.5 mg/ml, T4: Malation 57 EC, T5: Etanol +Agua al 25%.

Asimismo, se puede observar que otro tratamiento que presentó una alta mortalidad de moscas fue el extracto de flor a 1 mg/ml (F2). Los resultados pueden relacionarse en alguna medida con los reportados por Torres et al., 2010, que evaluaron extractos del néctar de las flores y obtuvieron el 98.3% de mortalidad de larvas de mosquitos del tercer y cuarto instar de *A. albimanus* al aplicar concentraciones del 5 y 10%.

4.5 Evaluación de la mortalidad de “gallina ciega” con la aplicación de extractos de hojas de “Llama del bosque”.

Por otro lado, se trabajó con el insecto conocido como “gallina ciega” (*Phyllophaga* sp.) del segundo estadio larvario, para determinar el efecto de los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”. En el cuadro 18 se puede observar que el tratamiento con Terbufos (T5), producto comercial, es el único que respondió al 100% de la mortalidad de los insectos, el cual es el tratamiento utilizado convencionalmente por los agricultores (Agrofos 5% G.); el efecto insecticida fue de manera rápida, por lo que se realizó la lectura de los resultados a las 4 horas después de la aplicación.

Los demás tratamientos con extractos y testigo absoluto no presentaron ningún efecto sobre la mortalidad de este insecto, por lo que bajo las condiciones de estos ensayos no se encontró ningún efecto insecticida de los extractos de hojas y

flores sobre las larvas de “gallina ciega” después de 4, 12, 24, 36, 48 y 72 horas de su aplicación. Probablemente los extractos no tuvieron efecto a las concentraciones evaluadas debido al mayor tamaño de la larva en relación a los otros insectos evaluados, en los que si hubo efecto insecticida, o al hábito alimenticio de las larvas, la cuales se alimentan de raíces, materia orgánica y de suelo (Saunders, Coto y King, 1988).

Cuadro 18. Datos de mortalidad de larvas de “gallina ciega” después de aplicar los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”.

Tratamientos	4 h	12 h	24 h	36h	48 h	72 h	Mortalidad
H1 R1	0	0	0	0	0	0	0
H1 R2	0	0	0	0	0	0	0
H1 R3	0	0	0	0	0	0	0
H2 R1	0	0	0	0	0	0	0
H2 R2	0	0	0	0	0	0	0
H2 R3	0	0	0	0	0	0	0
H3 R1	0	0	0	0	0	0	0
H3 R2	0	0	0	0	0	0	0
H3 R3	0	0	0	0	0	0	0
T5 R1	0	0	0	0	0	0	0
T5 R2	0	0	0	0	0	0	0
T5 R3	0	0	0	0	0	0	0
T4 R1	10	10	10	10	10	10	100
T4 R2	10	10	10	10	10	10	100
T4 R3	10	10	10	10	10	10	100

Referencias: H1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, H2: Extracto hojas 1 mg/ml, H3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Agrofos 5 % G, T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

4.6 Ensayos de aplicación de extractos de “Llama del bosque” sobre larvas de “gusano cogollero”.

4.6.1 Evaluación de efecto insecticida aplicando extracto de hojas de “Llama del bosque” sobre “gusano cogollero”.

En este ensayo se trabajó con larvas del tercer estadio del lepidóptero conocido como “gusano cogollero” *Spodoptera frugiperda*, colectados en un campo de maíz, sin haber aplicado insecticidas, para determinar el efecto de los extractos de hojas de “Llama del bosque”. Las larvas se colocaron en bandejas plásticas con dieta de cogollo de maíz. Las lecturas del número de mortalidad de larvas se realizaron a las 4, 12, 24, 36 y 72 horas.

En el cuadro 19 se presentan los resultados obtenidos de la aplicación del extracto de hojas a diferentes concentraciones a larvas del tercer instar de “gusanos cogolleros”, se observa que casi todos los tratamientos fueron efectivos para matar al “gusano cogollero” en un 100% a las 4 horas de aplicación, exceptuando el testigo absoluto (agua-alcohol al 25%), el cual no presentó ningún efecto insecticida sobre la mortalidad de los “gusanos cogolleros”. Estos resultados son similares a los obtenidos por Segantini et al., 2002, al aplicar extractos acuosos de hojas en concentraciones acuosas del 4 y 5% a larvas de la misma especie de larva bajo condiciones de laboratorio.

4.6.2 Evaluación del efecto insecticida del extracto de flores de “Llama del bosque” en “gusano cogollero”.

También se evaluó el efecto insecticida de los extractos de flores de “Llama del bosque” sobre el “gusano cogollero”. Las larvas se colocaron en bandejas plásticas con dieta de cogollo de maíz. Las lecturas de la mortalidad acumulada de larvas se realizaron a las 4, 12, 24, 36 y 72 horas. En el cuadro 20 se presentan las lecturas realizadas para poder determinar el efecto insecticida que provocó el extracto de flores de “Llama del bosque” en distintas concentraciones (0.5, 1.0 y 1.5 mg/ml) a los “gusanos cogolleros”.

En el cuadro 21 en anexos, se presentan los resultados obtenidos del ANDEVA para los datos de “gusano cogollero” muertos por efecto de la aplicación de

extracto de flores de “Llama del bosque” a las 12 horas; se puede observar que estadísticamente no existen diferencias significativa entre los tratamientos evaluados ya que el valor $P > F$ es mayor que la significancia (0.01).

Cuadro 19. Datos de mortalidad de “gusanos cogolleros” aplicando extracto de hojas.

Tratamientos	4 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	Mortalidad %
H1 R1	10	10	10	10	10	10	100
H1 R2	10	10	10	10	10	10	100
T1 R3	10	10	10	10	10	10	100
H2 R1	10	10	10	10	10	10	100
H2 R2	10	10	10	10	10	10	100
H2 R3	10	10	10	10	10	10	100
H3 R1	10	10	10	10	10	10	100
H3 R2	10	10	10	10	10	10	100
H3 R3	10	10	10	10	10	10	100
T5 R1	0	0	0	0	0	0	0
T5 R2	0	0	0	0	0	0	0
T5 R3	0	0	0	0	0	0	0
T4 R1	10	10	10	10	10	10	100
T4 R2	10	10	10	10	10	10	100
T4 R3	10	10	10	10	10	10	100

Referencias: H1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, H2: Extracto hojas 1 mg/ml, H3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Volaton 5 % G, T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

Los datos del cuadro 20 y los resultados del ANDEVA del cuadro 21, muestran que todos los tratamientos poseen medias similares del número de “gusanos cogolleros” muertos, exceptuando el testigo absoluto. Los tratamientos F2 y F3 presentaron el 100% de mortalidad igual al insecticida Volaton 5% G (Phoxim), el cual cita King y Saudern (1985) para el control químico. El tratamiento de extracto a 0.5 mg/ml (F1) alcanzo el 91% de mortalidad a las 24 horas y finalmente la más baja mortalidad observada fue con el testigo absoluto (T5), correspondiendo al 28.75%. Los resultados obtenidos sugieren que se pueden utilizar los extractos de

flores a las concentraciones de 1.0 y 1.5 mg/ml para el combate de “gusano cogollero”, previo a realizar ensayos en invernaderos o en el campo.

Cuadro 20. Datos de mortalidad de “gusano cogollero” aplicando extracto de flores.

Tratamientos	Total de insectos	Insectos muertos 12 h	Insectos muertos 24 h
F1 R1	8	8	8
F1 R2	8	6	6
F1 R3	8	3	8
F2 R1	8	8	8
F2 R2	8	8	8
F2 R3	8	8	8
F3 R1	8	8	8
F3 R2	8	8	8
F3 R3	8	8	8
T5 R1	8	0	2
T5 R2	8	0	3
T5 R3	8	0	2
T4 R1	8	3	8
T4 R2	8	5	8
T4 R3	8	6	8

Referencias: F1: Extracto flores 0.5 mg/ml, F2: Extracto flores 1 mg/ml, F3: Extracto flores 1.5 mg/ml, T4: Volaton 5 % G., T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

4.7 Evaluación del efecto insecticida de extractos de “Llama del bosque” sobre “trips”.

4.7.1 Evaluación del efecto insecticida de extractos de flores de “Llama del bosque” sobre “trips”.

Este ensayo se realizó con “trips” de los Ficus. Los insectos fueron colectados en arbustos de Ficus de los jardines del campus en Mazatenango de la Universidad

de San Carlos de Guatemala. En este ensayo se evaluaron únicamente ocho “trips” adultos por unidad experimental, por limitaciones del número de insectos colectados. En general, se presentó una alta mortalidad, por lo cual el ensayo se finalizó a las 12 horas de las aplicaciones de los tratamientos. En el cuadro 22 se presentan los resultados de la mortalidad del número y porcentaje de mortalidad de “trips” de los Ficus, luego de la aplicación de los tratamientos evaluados, los que muestran que los extractos de flores tuvieron un efecto insecticida del 100% igual que el insecticida químico Endosulfan.

Cuadro 22. Resultados obtenidos de la evaluación tratamientos de extracto de flores de “Llama del bosque” sobre “trips” de los Ficus.

Tratamientos	No. “trips” muertos 12 horas	Mortalidad %
F1 R1	8	100
F1 R2	8	100
F1 R3	8	100
F2 R1	8	100
F2 R2	8	100
F2 R3	8	100
F3 R1	8	100
F3 R2	8	100
F3 R3	8	100
T5 R1	1	12.5
T5 R2	0	0.0
T5 R3	1	12.5
T4 R1	8	100
T4 R2	8	100
T4 R3	8	100

Referencias: F1: Extracto flores 0.5 mg/ml, F2: Extracto flores 1 mg/ml, F3: Extracto flores 1.5 mg/ml, T4: Endosulfan 35 EC., T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

4.7.2 Evaluación del efecto insecticida de extractos de hojas de “Llama del bosque” sobre “trips”.

Este ensayo también se realizó con extractos de hojas de “Llama del bosque” y los resultados se presentan en el cuadro 23. El efecto insecticida también se observó a las 12 horas de la aplicación del tratamiento alcanzando una mortalidad del 100% con el insecticida Endosulfan (T4) y del 87.5 al 100% con los extractos de hojas a 0.5., 1.0 y 1.5 mg/ml de solución (F1, F2 y F3, respectivamente).

Cuadro 23. Resultados obtenidos de la evaluación tratamientos de extracto de hojas de ”Llama del bosque” sobre “trips” de los Ficus.

Tratamientos	No. “trips” muertos 12 horas	Mortalidad %
H1 R1	7	87.5
H1 R2	8	100.0
H1 R3	7	87.5
H2 R1	8	100.0
H2 R2	8	100.0
H2 R3	7	82.5
H3 R1	8	100.0
H3 R2	8	100.0
H3 R3	8	100.0
T5 R1	1	12.5
T5 R2	0	0.0
T5 R3	0	0.0
T4 R1	8	100.0
T4 R2	8	100.0
T4 R3	8	100.0

Referencias: F1: Extracto hojas 0.5 mg/ml, F2: Extracto hojas 1 mg/ml, F3: Extracto hojas 1.5 mg/ml, T4: Endosulfan 35 EC., T5: Etanol +Agua al 25%. R: repetición.

Los resultados muestran que el extracto de hojas a 1.5 mg/ml (F3) tuvo un efecto insecticida del 100%, igual que el insecticida químico Endosulfan y que la más baja mortalidad de “trips” fue con el testigo absoluto (etanol-agua al 25%).

4.8 Resultados generales de los extractos evaluados con mejor efecto insecticida sobre las plagas en estudio.

4. 8.1 Ensayos en “broca del café”

De acuerdo a los análisis estadísticos realizados en los tratamientos para evaluar la mortalidad de la “broca del café”, se determinó que la mejor concentración de extracto hojas de “Llama del bosque” para controlar este insecto es a 1.5 mg/ml, debido a que esta misma concentración provocó la mortalidad de más del 50% de la población de estos insectos en ensayos de laboratorio.

En cuanto a los extractos de flores, se determinó que los mejores tratamientos fueron las dosis a 1.0 y 1.5 mg/ml de concentración, ya que estas dosis provocaron la muerte a toda la población de “broca del café”, evaluadas en cada unidad experimental. Por aspectos económicos, se puede recomendar utilizar la concentración de 1.0 mg/ml bajo condiciones de laboratorio.

En términos generales, se concluye que los mejores tratamientos para controlar la “broca del café” son el extracto de hojas a 1.5 mg/ml y el extracto de flor a 1.0 mg/ml.

4.8.2 Ensayos con “moscas del Mediterráneo”.

Estadísticamente se comprobó que el extracto de hojas en dosis del 1.0 y 1.5 mg/ml de concentración provocan el 100% de mortalidad en “moscas del Mediterráneo” “al igual que el insecticida Malation 57 EC., por lo que es recomendable utilizar dosis de 1.0 mg/ml de concentración del extracto. Todos los tratamientos, a excepción del testigo absoluto, provocaron como mínimo el 50% de mortalidad de la población de “moscas del Mediterráneo”.

En cuanto al extracto de flores, se determinó a través de los análisis realizados que el mejor tratamiento es la dosis a 1.5 mg/ml, la cual provocó la mortalidad de toda la población de “moscas del Mediterráneo”. Por lo tanto, los mejores tratamientos para el control de “moscas del Mediterráneo” son el extracto de hojas

a 1.0 mg/ml y el extracto de flor al 1.5 mg/ml; también, es recomendable realizar pruebas de aplicaciones de estas dosis en un huerto comercial de frutas para determinar si en estas otras condiciones se producen efectos insecticidas similares sobre las moscas de la fruta.

4.8.3 Ensayos con “gallina ciega”.

En relación a los ensayos de efecto insecticida de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”, ninguno de los extractos tuvo efecto sobre las larvas de “gallina ciega” del segundo instar.

4.8.4 Ensayos con “gusano cogollero.”

En el ensayo de extractos de hojas se tuvo el 100% de mortalidad de larvas a las 4 horas después de aplicar los extractos en las tres concentraciones empleadas. En los extractos de flores se alcanzó el 100% de mortalidad de larvas a las 12 horas con los extractos a 1.0 y 1.5 mg/ml, también en el testigo relativo (Volaton). Para futuros ensayos de campo se podría utilizar la menor concentración de extracto de hojas y flores (0.5 mg/ml) para evaluar su actividad.

4.8.5 Ensayos con “trips” de los Ficus.

En los ensayos de aplicación de extractos de flores y hojas de “Llama del bosque” sobre “trips”, se tuvo el 100% de mortalidad de adultos de “trips” a las 12 horas después de la aplicación de los tratamientos de extractos de hojas y flores a 1.5 mg/ml (F3 y H3), éstos mostraron el mismo efecto del insecticida químico Endosulfan (T4). Con las concentraciones de 0.5 y 1.0 mg/ml de extractos de hojas (H1 y H2), la mortalidad fue de 87.5 a 100%. En otra etapa de investigación se podría evaluar estas concentraciones en ramas infestadas de “trips” de arbustos de Ficus en invernaderos y después directamente en el campo.

Para la futura aplicación de los extractos en el caso de los insectos evaluados, como “broca del café”, “gusano cogollero”, “trips” y “gorgojos”, es necesario conocer el daño y época de control para que no coincida con la etapa de floración del cultivo, para que no haya efecto sobre abejas polinizadoras. En el caso del maíz no hay problema, porque la polinización es anemófila y no entomológica. En general, una recomendación sería tomarse en cuenta el momento de la aplicación en los cultivos para que no coincida con la etapa de floración y evitar estos efectos colaterales que ocurren al aplicar la mayoría de plaguicidas sintéticos (por ejemplo, el Endosulfan puede provocar mortalidad de insectos benéficos hasta 12 días después de la aplicación).

4.9 Resultados de actividad repelente de “gorgojos de maíz” con hojas y flores de “Llama del bosque”.

En este ensayo se evaluó el efecto repelente de hojas o de flores frescas picadas y colocadas en vasos con maíz infestados con gorgojos. En el cuadro 24 se presentan los resultados del porcentaje de insectos escapados que por efecto repelente de los tratamientos salieron de los vasos perforados, utilizados como unidades experimentales.

Cuadro 24. Porcentaje acumulado de insectos escapados de los vasos por actividad repelente de “Llama del bosque” después de la aplicación.

Tratamiento	1 h	2 h	17 h
Flores frescas	56.87%	68.75%	79.37%
Hojas frescas	53.12%	58.12%	63.75%
Testigo	43.75%	46.25%	52.50%

En este cuadro se muestra que el mejor tratamiento de efecto repelente de “gorgojos” del maíz fueron las flores frescas arrojando un promedio del 79.37 % de “gorgojos” escapados, mientras que el tratamiento de hojas frescas reportó el 63.75 %. Ambos tratamientos son superiores al testigo el cual alcanzó un 52.50 % de “gorgojos” escapados a las 17 horas.

Los resultados de los ANDEVA del número de insectos escapados determinaron que a 1 hora de toma de datos no hubo diferencia significativa entre tratamientos. A las dos horas se realizó un nuevo conteo y se realizó otro ANDEVA a los datos acumulados de insectos escapados de los vasos y si se encontraron diferencias estadísticas al 5% de significancia, los resultados se presentan el cuadro 25 en anexos. Posteriormente se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey, los resultados de las medias del número de insectos escapados por efecto de hojas y flores de “Llama del bosque” se presentan en el cuadro 26.

Cuadro 26. Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos escapados a las dos horas de liberados en los tratamientos.

Tratamiento	Media	Desviación Estándar	Categoría
Flores	113.750	2.435	A
Hojas	11.375	2.387	AB
Testigo	9.375	3.117	B

Con base a la prueba de medias, el mejor tratamiento con efecto repelente de “gorgojos del maíz” fue el extracto de las flores de “Llama del bosque”, seguido por el de las hojas. A las 17 horas se efectuó la última toma de datos del número acumulado de insectos escapados, estos datos se sometieron a un ANDEVA y los resultados se presentan el cuadro 27 en anexos, en donde se muestran diferencias entre tratamientos al 5% de significancia. También se realizó una

prueba de medias para determinar cuál fue el tratamiento que tuvo el mayor efecto repelente, ésta se presenta en el cuadro 28.

Con base a la prueba de medias, el mejor tratamiento con efecto repelente de “gorgojos del maíz”, a las 17 horas de liberados los gorgojos, fue las flores de “Llama del bosque”, seguido de las hojas, resultados similares a los obtenidos en las primeras 2 horas de evaluación.

Cuadro 28. Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos escapados a las 17 horas de liberados en los tratamientos.

Tratamiento	Media	Desviación Estándar	Categoría
Flores	15.875	3.044	A
Hojas	12.750	2.493	AB
Testigo	10.500	3.117	B

4.10 Resultados del efecto insecticida de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” en “gorgojos de maíz”.

En este ensayo se presentan los resultados obtenidos del efecto insecticida con las concentraciones de 1.5 y 2 mg/ml. Con las concentraciones de 0.5 y 1 mg/ml no se determinaron efectos insecticidas estadísticamente significativos. En el cuadro 29 se presenta el porcentaje acumulado de insectos muertos por la actividad insecticida de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”.

Como puede observarse, el mayor porcentaje acumulado de gorgojos muertos se presentó en las unidades con aplicación de extractos de flores. En el mismo cuadro, también se reporta el mayor efecto insecticida con los extractos de flores, que alcanzó entre el 70.0 y 76.7% de mortalidad de gorgojos a las 12 horas de la aplicación de las concentraciones de 1.5 y 2.0 mg/ml, respectivamente.

Estos resultados presentan una buena alternativa al uso de insecticidas químicos residuales como la Permetrina, Fenvalerato, Carbaril o Fosfuro de aluminio que citan Saunders, Coto y King (1998) para su control.

Al número acumulado de “gorgojos” muertos a 1, 2, 6 y 12 horas se realizó análisis de varianza y pruebas de comparación de medias de Tukey y los resultados se presentan en el cuadro 30 en anexos y en el cuadro 31.

Cuadro 29. Porcentaje acumulado de mortalidad de “gorgojos” por actividad insecticida de los extractos de “Llama del bosque”.

Tratamiento	1 h	2 h	6 h	12 h.
Extracto de hojas 1 mg/ml	0.00	6.67	6.67	6.67
Extracto de hojas 1.5 mg/ml	0.00	6.67	6.67	10.00
Extracto de hojas 2.0 mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00
Extracto de flores 1 mg/ml	3.30	40.00	47.00	47.00
Extracto de flores 1.5 mg/ml	3.30	70.00	70.00	70.00
Extracto de flores 2.0 mg/ml	16.67	76.70	76.70	76.70
Testigo	0.00	8.00	8.00	8.00

El valor de la probabilidad de “F” del cuadro 30 de anexos, determinó que existen diferencias al 5% de significancia, por lo cual se realizó una prueba de medias de Tukey, los resultados de esta prueba se presentan en el cuadro 31.

Cuadro 31. Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos, una hora después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamiento	Media	Desviación Estándar	Categoría
Flores 3	1.6095	0.3395	A
Flores 2	1.1381	0.2391	AB
Flores 1	1.1381	0.2391	AB
Hojas 3	1.0000	0.0000	B
Hojas 2	1.0000	0.0000	B
Hojas 1	1.0000	0.0000	B
Testigo	1.0000	0.0000	B

Referencias: F1 y H1: Extracto a 1.0 mg/ml, F2 y H2: Extracto a 1.5 mg/ml, F3 y H3: Extracto a 2.0 mg/ml, T: Etanol +Agua al 25%.

Con base a la prueba de medias, el mejor tratamiento con efecto insecticida de “gorgojos del maíz” a 1 hora después de la aplicación de los extractos, fue el extracto de flores de “Llama del bosque” a una concentración de 2 mg/ml de solución, seguido de las otras concentraciones de extractos de flores a 1 y 1.5 mg/ml. Posteriormente se realizó un ANDEVA para los datos de “gorgojos del maíz” muertos a las 2 horas, los resultados se presentan en el cuadro 32 en anexos.

Con los resultados del ANDEVA del cuadro 32 de anexos, se estableció que existen diferencias significativas entre el efecto de los tratamientos sobre la mortalidad de gorgojos, por lo que se realizó una prueba de medias de Tukey que se presenta en el cuadro 33. También, el mejor tratamiento con efecto insecticida de “gorgojos del maíz”, a las 2 horas después de la aplicación de los extractos, fue el de las flores de “Llama del bosque” a 2 mg/ml de solución, seguido de la concentración de 1.5 mg/ml.

Cuadro 33. Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos a las dos horas después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamiento	Media	Desviación Estándar	Categoría
Flores 3	2.9360	0.2641	A
Flores 2	2.8134	0.3566	A
Flores 1	2.1547	0.7321	AB
Hojas 2	1.2440	0.4226	BC
Hojas 1	1.2761	0.2391	BC
Testigo	1.2761	0.2391	BC
Hojas 3	1.0000	0.0000	C

Referencias: F1 y H1: Extracto a 1.0 mg/ml, F2 y H2: Extracto a 1.5 mg/ml, F3 y H3: Extracto a 2.0 mg/ml, T: Etanol +Agua al 25%.

A los resultados del número de insectos muertos a las 6 y 12 horas de la aplicación, también se realizó un ANDEVA (cuadro 34 y 36 de anexos) y pruebas de medias de Tukey, los cuales se presentan en los cuadros 35 y 37, respectivamente.

De acuerdo a la prueba de medias de Tukey (cuadro 35), el mejor tratamiento con efecto insecticida de “gorgojos del maíz”, a las 6 horas de la aplicación fue el extracto de flores de “Llama del bosque” a 2 mg/ml, seguido de la concentración de 1.5 mg/ml.

Cuadro 35. Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos a las seis horas después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamiento	Media	Desviación Estándar	Categoría
Flores 3	2.9969	0.1669	A
Flores 2	2.8134	0.3566	A
Flores 1	2.2602	0.9149	AB
Hojas 2	1.2440	0.4226	BC
Hojas 1	1.2761	0.2391	BC
Testigo	1.2761	0.2391	BC
Hojas 3	1.0000	0.0000	C

Referencias: F1 y H1: Extracto a 1.0 mg/ml, F2 y H2: Extracto a 1.5 mg/ml, F3 y H3: Extracto a 2.0 mg/ml, T: Etanol +Agua al 25%.

Así, la prueba de medias (cuadro 37) indica que el mejor tratamiento con efecto insecticida de “gorgojos del maíz”, a las 12 horas de la aplicación fue el extracto de las flores de “Llama del bosque” a una concentración de 2 mg/ml de solución, seguido de la concentración de 1.5 mg/ml, aunque los porcentajes de mortalidad presentados son menores a los obtenidos por Cubas (1995), que reporta el 92% de mortalidad con aceite de Eucalipto, seguido de la Soya con el 73%, en una evaluación *in vitro*, en concentraciones de 2.0 ml de aceite/Kg de semilla de maíz a las 48 horas de la aplicación.

Los porcentajes de mortalidad de gorgojos con extractos de flores de “Llama del bosque” son similares a los obtenidos con el aceite de Soya, por lo que, en función de la disponibilidad de material y costos, los extractos de flores de “Llama del bosque” presentan una buena alternativa al control de “gorgojos en maíz” almacenado, especialmente en áreas rurales de Guatemala, donde este árbol es abundante.

Cuadro 37. Resultados la prueba de medias de Tukey del número de insectos muertos a las 12 horas después de la aplicación de los tratamientos.

Tratamiento	Media	Desviación Estándar	Categoría
Flores 3	2.9969	0.1669	A
Flores 2	2.8134	0.3566	A
Flores 1	2.2602	0.9149	AB
Hojas 2	1.3821	0.3671	BC
Hojas 1	1.2761	0.2391	BC
Testigo	1.2761	0.2391	BC
Hojas 3	1.0000	0.0000	C

Referencias: F1 y H1: Extracto a 1.0 mg/ml, F2 y H2: Extracto a 1.5 mg/ml, F3 y H3: Extracto a 2.0 mg/ml, T: Etanol +Agua al 25%.

4.11 Resultados del análisis de cromatografía de gases acoplado a masas de los extractos y volátiles de “Llama del bosque”.

Los compuestos encontrados en flores y hojas de “Llama del bosque” se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Se utilizó una columna polar CPWAX 57CB de 25 M x 320 micrones de diámetro interno marca Varian. Los picos de los compuestos identificados en las muestras se presentan en la figura 14.

Por comparación del tiempo de retención, el peso molecular e índice de Kovats (cuadro 38), se identificaron los terpenos: α -pineno, canfeno y mirceno (Figura 15).

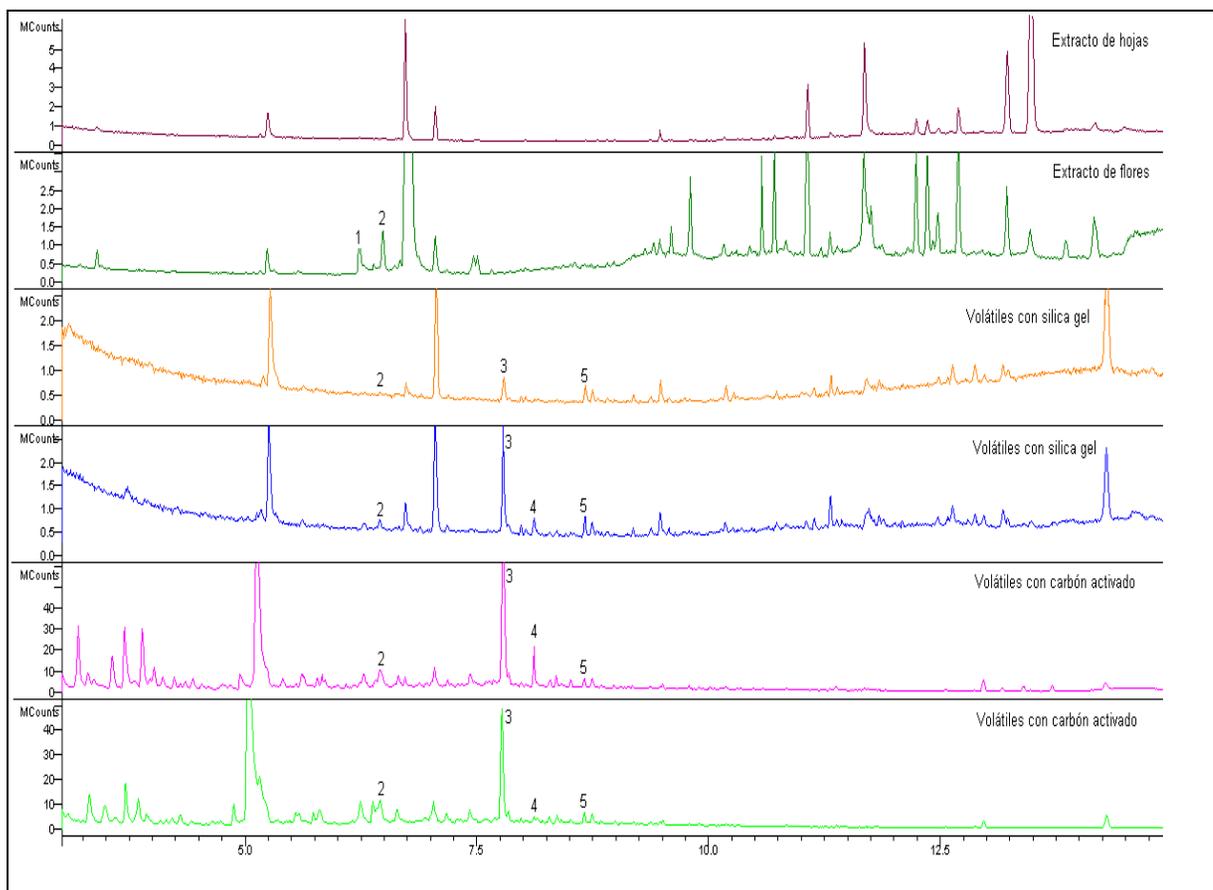


Figura 14. Cromatogramas de compuestos presentes en hojas y flores de "Llama del bosque"

Cuadro 38. Compuestos presentes en hojas flores y volátiles de "Llama del bosque".

Pico	t. de Retención (min)	Compuesto	Peso Molecular	Pico Base	Índice de Kovats	Compuesto Identificado
1	6.23	Monoterpeno	136	93	930	α pineno
2	6.48	Sesquiterpeno	204	91	943	Canfeno
3	7.79	Sesquiterpeno	204	67	1010	Mirceno
4	8.12	Furano	218	69	1028	Furano
5	8.67	Éster	172	43	1000	Éster

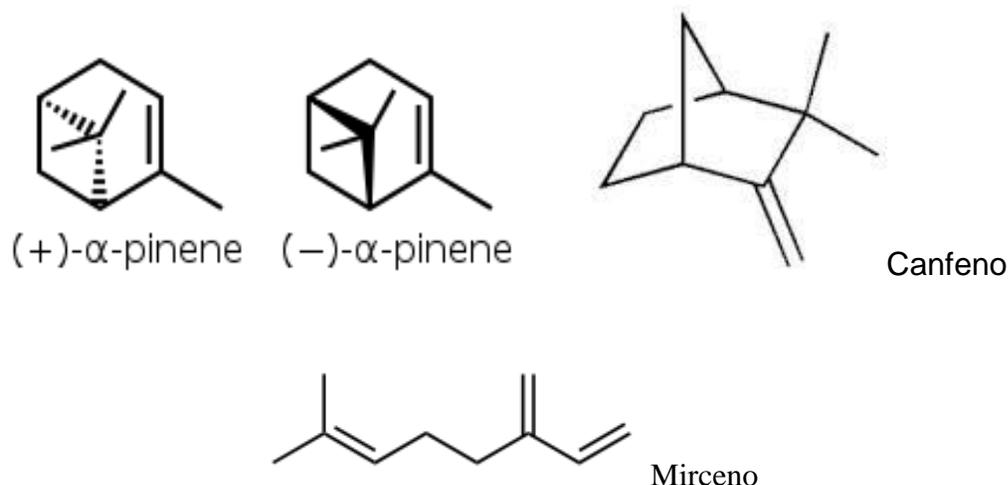


Figura 15. Estructuras químicas de los terpenos: α -pineno, canfeno y mirceno.

Los terpenos son los compuestos más abundantes y se relacionan con los metabolitos aislados por Ngouela, et al. 1990, quienes reportan triterpenos y varios ácidos orgánicos en extractos de tallos. Makinde et al., 1987, reportan en extractos de corteza ácido ursólico y tomentosólico; Flach, 2005, reporta como constituyentes del néctar, volátiles, carbohidratos y compuestos secundarios, α - y β -amirina, cicloeucanol, colesterol, estigmaesterol y otros triterpenos. En ECOSUR, en los extractos de hojas y flores se encontraron más sesquiterpenos y monoterpenos.

Palacios y Gladstone (2003), evaluaron dos repelentes potenciales, el sesquiterpeno farnesol y la semilla de ayote (*Cucurbita maxima*), de donde se aísla el farnesol, para su acción sobre la hormiga “corta hojas” *Atta mexicana*, obteniendo buenos resultados de control de esta plaga de insectos. En las flores de “Llama del bosque” en esta investigación también se encontraron hormigas muertas (cuadro 5), lo que confirma la actividad insecticida o repelente de los sesquiterpenos identificados en esta investigación.

Asimismo, los triterpenos se caracterizan por ser muy efectivos como insecticidas y fungicidas (Chen et al., 2005; Connolly y Hill, 2002). Estos compuestos también se reportan en “Llama del bosque”.

Los sesquiterpenos identificados por cromatografía de gases se caracterizan por provocar efecto anti -alimentario en insectos y alelopático (Fraga, 2003; Silva et al., 2009 citado por De la Torre et al., 2010).

De la misma manera, Pérez, A. (2012), en la investigación de Tesis Doctoral estudió la actividad plaguicida del aceite esencial de inflorescencias, extractos y material vegetal liofilizado de *C. coronarium* sobre plagas de almacén: *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae), *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera: Bruchidae), *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae) y *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) y otras como: “mosca blanca”: *Bemisia tabaci* Genn. (Homoptera: Aleyrodidae). Las aplicaciones tópicas de extractos mostraron actividad insecticida a dosis de 30 microgramos/insecto. El análisis del aceite esencial de inflorescencias permitió la identificación de alcanfor (27%), liralacetato (13%), α -y β -pineno (10 y 9%, respectivamente) y en menor proporción canfeno, α -felandreno, germacreno D y camazuleno. Estos resultados se relacionan con los obtenidos con los extractos de “Llama de bosque” en donde se identificaron los terpenos: α -pineno, canfeno y mirceno (Figura 15), y se obtuvo actividad insecticida con varias especies de plagas de insectos (cuadros: 6, 9, 12, 15, 19, 20, 22, 23 y 29).

Romeu, Ferret y Finalé (2007), realizaron la caracterización fitoquímica de aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y evaluaron *in vitro* su actividad acaricida sobre el fitófago *Tetranychus tumidus* en dosis de 0.25, 0.50 y 0.75 % de i.a, por aspersión e inmersión. Por inmersión al 0.75 % de ingrediente activo provocó el 100% de mortalidad a las 48 horas de aplicación y al 0.25 y 0.50% de ingrediente activo la mortalidad fue más lenta, alcanzando casi el 100% a las 72 horas. Los componentes mayoritarios fueron: 1,8-cineol, alcanfor y α -pineno.

En otra investigación, Prieto, et al. (2010), reportan actividad insecticida y anti-fúngica de los aceites esenciales de dos especies colombiana de *Ocotea* (Lauraceae) para su uso potencial como plaguicida natural. Los resultados de la composición de los aceites esenciales de *O. longifolia* y *O. macrophylla*, muestran que los aceites contienen principalmente monoterpenos y sesquiterpenos. Los componentes volátiles determinados constituyen entre 72-98% de la composición de los aceites esenciales de las dos especies género *Ocotea*. Los monoterpenos son los componentes más abundantes en el aceite de *O. longifolia*, representando más del 90%, mientras que para el aceite de *O. macrophylla* los monoterpenos solo constituyen un 6.20%, siendo los componentes minoritarios. Los sesquiterpenos representan el 70.62% de la composición del aceite esencial de *O. macrophylla*.

El aceite esencial de hojas de la especie *O. longifolia* presentó una significativa actividad fumigante sobre *Sitophilus zeamais*, por lo que podría llegar a ser una alternativa potencial para el control de estos insectos plaga, con la realización de estudios de actividad más específicos que permitan determinar su aplicabilidad y seguridad. Los aceites esenciales evaluados causaron una baja inhibición en el crecimiento de los hongos *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* y *Botrytis cinérea* (menores al 40%).

Por lo anterior, los resultados de esta investigación fundamentan las evaluaciones obtenidas *in vitro* con los extractos de “Llama del bosque” contra varias plagas de insectos y hongos fitopatógenos, observando que los terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) tienen actividad insecticida y anti-fúngica. En esta investigación de la “Llama del bosque” también se reporta la presencia de un furano y un éster que son compuestos volátiles con propiedades repelentes y atrayentes de trampas de insectos respectivamente.

En resumen, los compuestos más abundantes en extractos de hojas y flores así como en volátiles de flores son los terpenos, que tienen propiedades: insecticida, anti-fúngica y repelente.

4.12 Resultados de actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre hongos fitopatógenos.

Este bioensayo se realizó en laboratorio en hongos fitopatógenos, cultivados en PDA. El efecto fungistático fue la medición mediante un vernier electrónico de la distancia de borde de crecimiento de la colonia del hongo al disco impregnado de los extractos o fungicidas comerciales o del solvente agua-alcohol al 25 %. En la figura 15 se presenta la medición del efecto fungistático en *Alternaria sp.* a las dos concentraciones evaluadas (5 y 10 mg/mL), éstas se identificaron como 1a y 1b en los discos de papel Watman # 1.

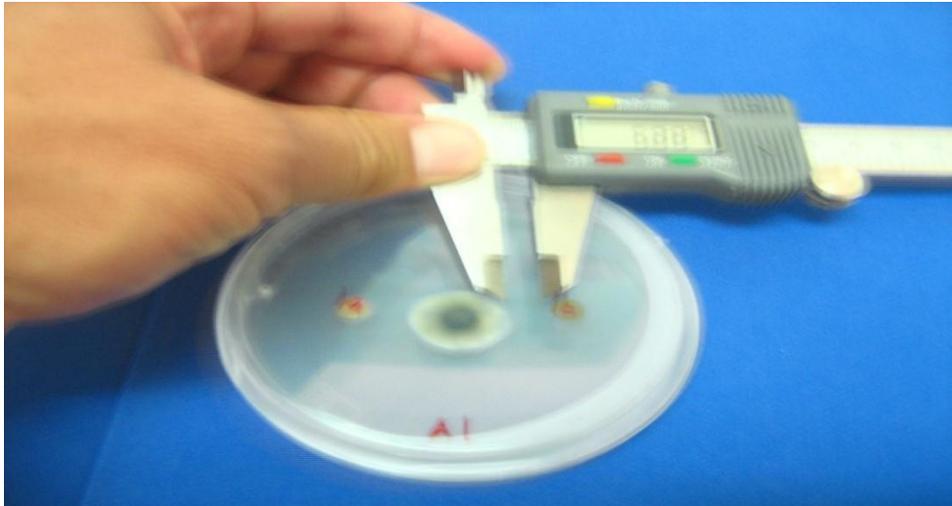


Figura 16. Medición de la actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” en *Alternaria sp.*
(Fotografía de Alarcón, 2011).

Los resultados de la actividad fungistática se presentan en el cuadro 39, éstos muestran que a las 24 horas de la siembra de los hongos en PDA, con los discos de extractos de hojas y flores de “Llama del bosque”, con el Tebuconazole y el agua destilada-etanol no se observó ningún crecimiento de los hongos bajo estudio.

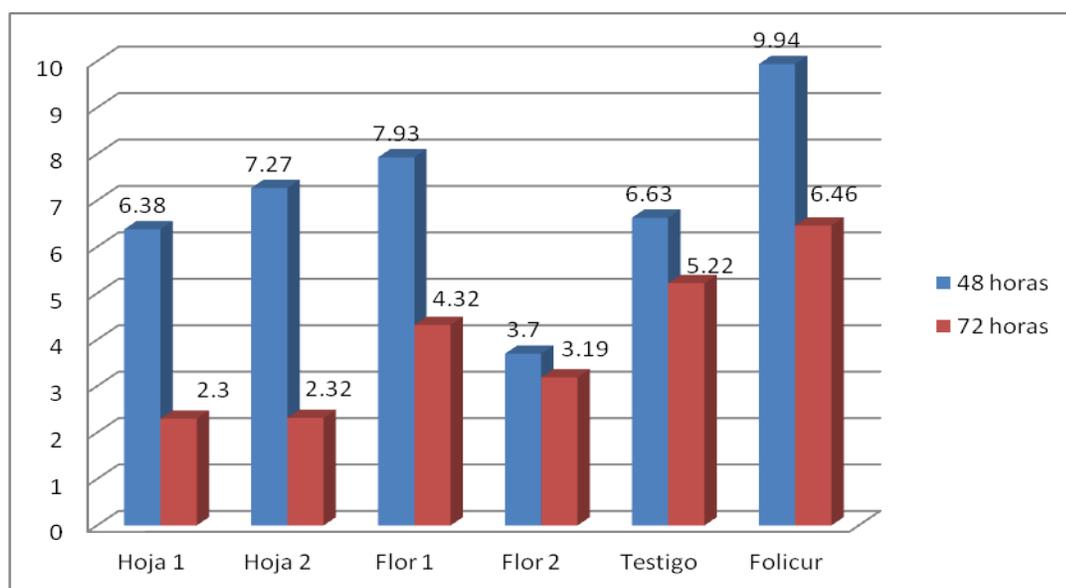
A las 48 y 72 horas si se presentó crecimiento de las colonias de hongos fitopatógenos inoculados en las placas y se midió la distancia del crecimiento de la colonia de cada hongo al disco impregnado de extractos a 5 y 10 mg/mL de extractos de hojas y flores, agua destilada- etanol al 25 % y como testigo relativo el fungicida Tebuconazole (Folicur 250 EC en dosis comercial de 0.75 l/ha). Con los datos de estas mediciones se realizaron gráficas para mostrar los resultados del efecto fungistático de los extractos para cada hongo en estudio.

Cuadro 39. Resultados de la actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” en fitopatógenos.

Distancia borde de colonia al disco (mm). 24 horas						
Hongo Fitopatógeno	Hoja 1	Hoja 2	Flor 1	Flor 2	Testigo	Folicur
<i>Alternaria sp.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Fusarium sp.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus sp.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Curvularia</i>	0	0	0	0	0	0
Distancia borde de colonia al disco (mm). 48 horas						
Hongo Fitopatógeno	Hoja 1	Hoja 2	Flor 1	Flor 2	Testigo	Folicur
<i>Alternaria sp.</i>	6.38	7.27	7.93	3.70	6.63	9.94
<i>Fusarium sp.</i>	7.81	5.85	9.78	6.28	6.65	9.74
<i>Aspergillus sp.</i>	0.00	4.23	2.56	1.48	2.66	7.87
<i>Curvularia</i>	1.85	2.13	1.59	6.70	1.55	13.18
Distancia borde de colonia al disco (mm). 72 horas						
Hongo Fitopatógeno	Hoja 1	Hoja 2	Flor 1	Flor 2	Testigo	Folicur
<i>Alternaria sp.</i>	2.30	2.32	4.32	3.19	5.22	6.46
<i>Fusarium sp.</i>	7.25	4.65	5.34	5.31	6.27	7.82
<i>Aspergillus sp.</i>	0.00	1.76	1.64	1.90	0.00	4.84
<i>Curvularia</i>	0.00	0.00	0.90	1.03	0.00	9.53

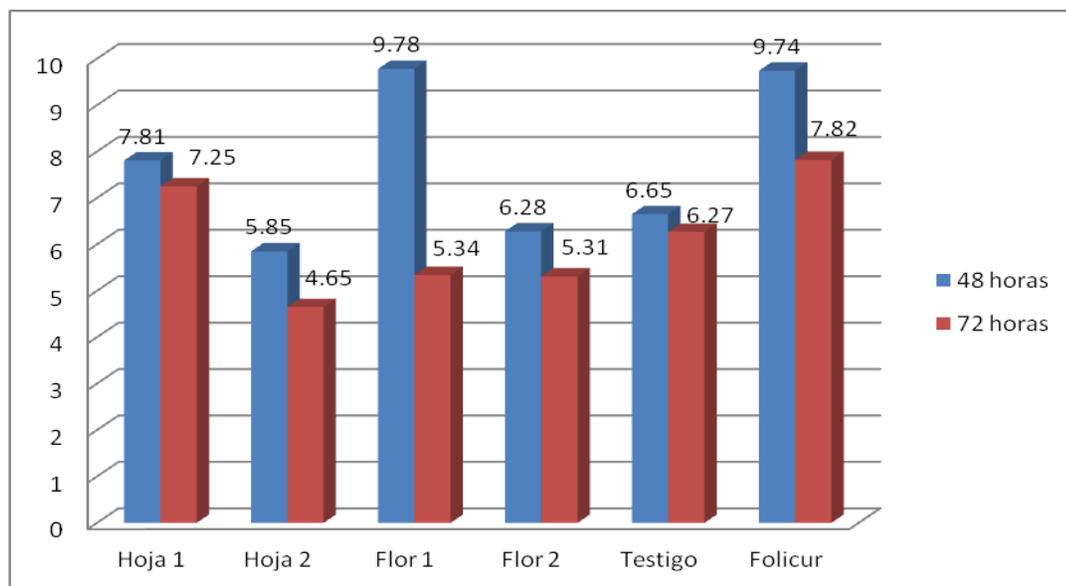
Referencias: H 1 y F1: Extracto a 5 mg/mL; H2 y F2: Extracto a 10 mg/mL.

En relación al hongo fitopatógeno *Alternaria sp.*, en la figura 17 se observa que la mayor inhibición del crecimiento a las 48 y 72 horas fue con el fungicida Tebuconazole, sin embargo, los extractos de Flor 1, Hoja 2 también mostraron un buen efecto fungistático a las 48 horas, el cual disminuyó a las 72 horas de inoculados los hongos. A las 72 horas la inhibición del crecimiento del hongo disminuyó con los extractos de flores de “Llama del bosque” y fue mayor el efecto fungistático del testigo absoluto.



Referencias: Hoja y Flor 1 = 1.5 mg/ml, Hoja y Flor 2 = 2.0 mg/ml.

Figura 17. Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre *Alternaria sp.*



Referencias: Hoja y Flor 1 = 1.5 mg/ml, Hoja y Flor 2 = 2.0 mg/ml.

Figura 18. Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre *Fusarium sp.*

Llontop, Díaz y Carreño (1995), utilizaron aceites esenciales de muña, limón y eucalipto y lograron conservar frutos por más tiempo retardando la pudrición por *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme* y *F. oxysporum* en frutos de papaya almacenados.

Los resultados de la actividad fungistática con *Fusarium sp.*, figura 18, muestran un comportamiento similar a la inhibición del crecimiento del hongo *Alternaria sp.*, con los extractos de Flor 1, Hoja 1.

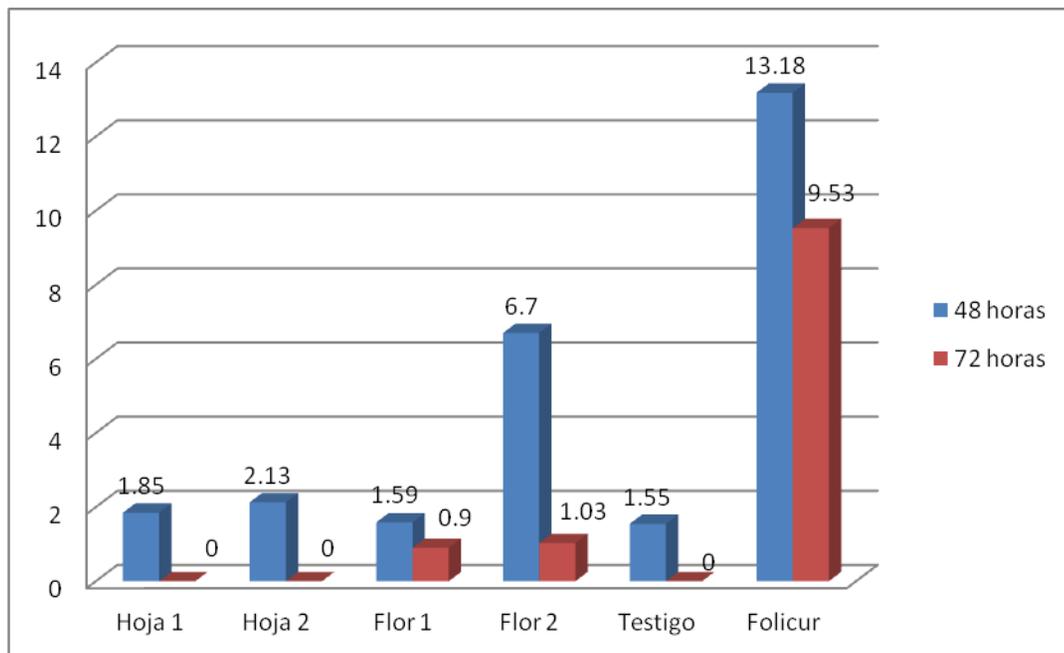
A las 48 horas se tuvo un efecto fungistático de los extractos mayor que el testigo absoluto. El extracto de Flor 1 tuvo mayor efecto que el Tebuconazole a las 48 horas, pero fue muy temporal y disminuyó a las 72 horas. Se observó una mayor consistencia de efecto fungistático del extracto de Hoja 1, para las dos lecturas que fue superior en inhibición al testigo absoluto, pero menor al Tebuconazole. Sin

embargo, existe un potencial uso del extracto de hojas para el control del hongo en agricultura sostenible, combinando con desinfección de semillas, rotación de cultivos con especies no relacionadas, buen drenaje del suelo y selección de variedades resistentes a *Fusarium* (Castaño y Del Rio, 1994).

En otras investigaciones relacionadas Llontop et al. (1995) reportan que el uso de aceite de muña *Minthostachys molis* tiene efecto antimicrobiano contra *Phytophthora infestans* y *Fusarium solani* en el cultivo de papa. También la infusión de cuncuno *Vallesia glabra* e infusión de vichayo *Capparis ovalifolia* controlaron a los hongos fitopatógenos *Rizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*.

Los resultados de la actividad fungistática con *Curvularia sp.*, se presentan en la figura 19. Con los extractos de Flor 2 se tuvo la mayor actividad fungistática después del tratamiento de Tebuconazole. Los extractos de Hojas 1, 2 y Flor 1 también presentaron mayor efecto fungistático que el testigo absoluto. A las 72 horas solo hubo efecto fungistático con el Tebuconazole, en el resto de los tratamientos la colonia de *Curvularia sp.* invadió casi todo el medio de cultivo por lo cual se presenta para Hoja 1,2 y testigo absoluto valores de 0 y valores de 0.9 y 1.03 para los extractos de Flor 1 y 2, respectivamente. El efecto fungistático de Flor 2 también fue muy temporal y disminuyó considerablemente a las 72 horas comparado con el fungicida Tebuconazole que fue muy consistente con el efecto fungistático.

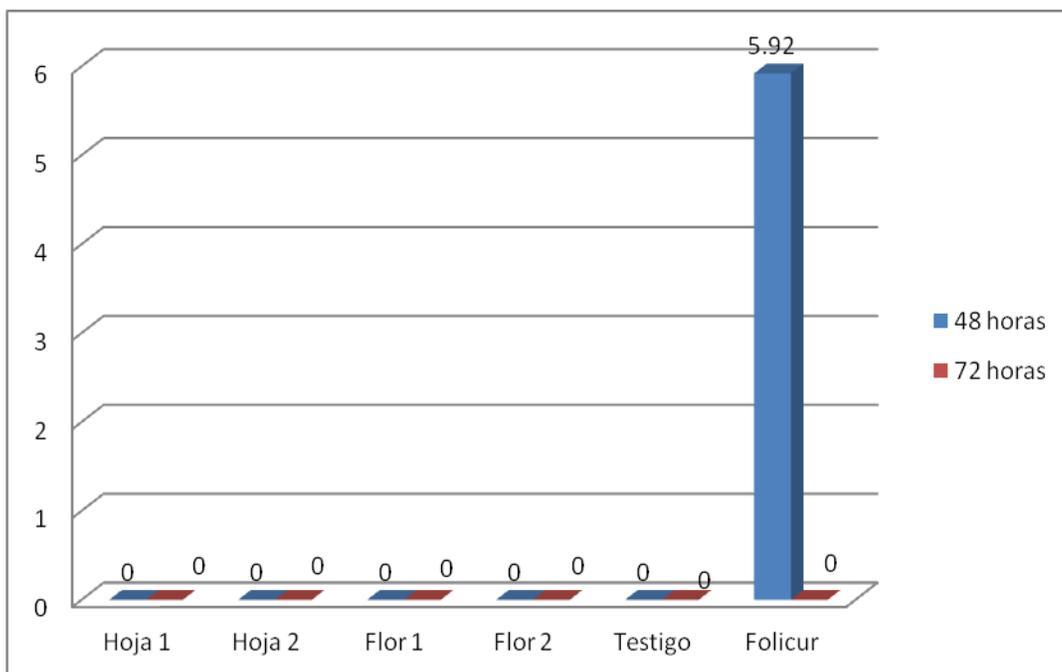
En relación al hongo *Aspergillus sp.*, los resultados de la actividad fungistática se presentan en la figura 20, este hongo fue muy invasivo en su crecimiento colonizando todas las placas Petri de los tratamiento de extractos de “Llama del bosque” y del testigo absoluto de etanol-agua al 25 %. El único tratamiento que presentó actividad fungistática fue el Tebuconazole (Folicur) en las primeras 48 horas, pero a las 72 horas este fungicida ya no tuvo actividad fungistática sobre *Aspergillus sp.*, ya que este hongo creció muy rápidamente sobre el medio PDA y se conoce que constituye uno de los principales hongos contaminantes y presentes en casi todos los ambientes y probablemente tenga alta resistencia a los fungicidas.



Referencias: Hoja y Flor 1 = 1.5 mg/ml, Hoja y Flor 2 = 2.0 mg/ml.

Figura 19. Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre *Curvularia sp.*

Pérez, M. (2012), en su investigación de Tesis Doctoral, estudió la actividad fungicida del aceite esencial de inflorescencias, extractos y material vegetal liofilizado de *C. coronarium* sobre los hongos *Alternaria sp.*, *Alternaria brassicola*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Mycocentrospora acerina*, *Penicillium digitatum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Serpula lacrymans*. La actividad fungicida por contacto del aceite esencial (20 µl/placa) fue más acusada en *Alternaria spp.*, *A. flavus* y *P. ultimum* que redujeron su crecimiento en más del 80% al tercer día desde la aplicación.



Referencias: Hoja y Flor 1 = 1.5 mg/ml, Hoja y Flor 2 = 2.0 mg/ml.

Figura 20. Actividad fungistática de extractos de “Llama del bosque” sobre *Aspergillus sp.*

La actividad volátil (10 μ l/placa) resultó menos persistente para especies de crecimiento rápido como *S. sclerotiorum*, *R. solani* y *B. cinerea*. El análisis del aceite esencial de inflorescencias permitió la identificación de alcanfor (27%), acetato de liralilo (13%), α - y β -pineno (10 y 9%, respectivamente) y en menor proporción canfeno, α -felandreno, germacreno D y camazuleno. Esta investigación se relaciona con los resultados del efecto fungistático de los extractos de “Llama del bosque” sobre *Fusarium*, *Alternaria* y *Curvularia*, los cuales, según el análisis químico realizado, también contienen α -pineno y canfeno.

4.13 Resultados de la actividad citotóxica contra nauplios de *Artemia salina* de extractos de hojas y flor de “Llama del bosque”.

Esta prueba se realizó en los laboratorios de investigación de productos naturales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (LIPRONAT) de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Los resultados se presentan en el cuadro 38 y muestran que los extractos de flores y hojas de “Llama del bosque”, no presentan actividad citotóxica en estos crustáceos bioindicadores a las dosis evaluadas y su DL50 es mayor a 1.mg /ml. Se realizó esta prueba para determinar si los extractos evaluados presentaban citotoxicidad *in vitro*. Las larvas del crustáceo son sensibles a muchas sustancias de prueba, con lo que puede determinarse la bioactividad de las mismas. Como prueba de tamizaje, ésta resulta idónea, principalmente en lo referente a la búsqueda de posibles sustancias antibióticas, citotóxicas y/o plaguicidas (Araujo, et al., 2003).

Cuadro 40. Resultados de la actividad citotóxica de extractos de “Llama del bosque” *S. campanulata* en nauplios de *Artemia salina*.

MUESTRA			PESO DEL EXTRACTO		
MX1 extracto de flores de “Llama de bosque”			1.6 mg		
MX2 extracto de hojas de “Llama de bosque”			1.1 mg		
MUESTRA	CONCENTRACIÓN DEL EXTRACTO	NAUPLIOS EVALUADOS	NÚMERO DE MUERTOS	% DE MORTALIDAD	DL 50
Extracto de flores de “Llama de bosque”	1mg/ml	10	0	0	> 1 mg/ml
		10	0	0	
		10	0	0	
Extracto de hojas de “Llama de bosque”	1mg/ml	10	0	0	> 1 mg/ml
		10	0	0	
		10	0	0	

5. CONCLUSIONES

1. Se corroboró que las flores de “Llama del bosque” tienen el potencial para matar insectos de las familias Chrysomellidae, Forficularidae, Scolytidae, Sciaridae, Pseudocidae y Tephritidae, los cuales son considerados plagas de cultivos, forestales y frutales, lo que confirma el potencial del uso de extractos de flores y hojas para el control de plagas de insectos de cultivos en Guatemala.
2. Se demostró que, en ensayos *in vitro*, la mejor actividad insecticida contra la “broca del café”, después del tratamiento con Endosulfan 35 EC, fue con el extracto de flores a 1.0 mg/ml y el segundo extracto con más potencia insecticida fue el de hojas a 1.5 mg/ml.
3. Se evidenció que, para ensayos *in vitro* contra la “mosca del Mediterráneo”, los extractos de hojas a 1.0 y 1.5 mg/ml fueron los que presentaron la mayor actividad insecticida, similar al Malation 57 EC y que el mejor extracto de flores fue a 1.5 mg/ml.
4. Se determinó que los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” no mostraron efecto insecticida contra la “gallina ciega”.
5. Se demostró que los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” presentaron efecto insecticida para el control de “gusano cogollero” a las tres concentraciones evaluadas.
6. Se determinó que los extractos de flores y hojas de “Llama del bosque” en sus distintas concentraciones tuvieron un efecto insecticida en el control de los “trips”.

7. Se evidenció que las hojas y flores de “Llama del bosque” al 1% tuvieron actividad repelente sobre “gorgojos de maíz” de *Sitophilus zeamais*, pero solo el extracto de flores tuvo efecto insecticida a 1.5 y 2.0 mg/ml.
8. Se demostró que los extractos de flores y hojas de “Llama del bosque” tuvieron efecto fungistático sobre hongos fitopatógenos como *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* y *Curvularia sp.* Los extractos de flor presentaron mayor actividad fungistática que los de hojas, pero menor que el Tebuconazole.
9. No se presentó actividad citotóxica contra *Artemia salina* en los extractos de flores y hojas de “Llama del bosque”, por lo que no se consideran tóxicos a las dosis evaluadas y su DL₅₀ es mayor a 1.0 mg/ml.
10. Se identificó mediante CG-EM que los principales compuestos en los extractos de hojas, flores y de los volátiles de “Llama del bosque”, fueron monoterpenos, sesquiterpenos, un derivado del furano y un éster. Entre los terpenos identificados están: α -pineno, canfeno y mirceno; los que reportan actividad insecticida, repelente y anti-fúngica.
11. Se acepta la hipótesis propuesta, debido a que en todos los ensayos realizados, exceptuando el de “gallina ciega”, los extractos provocaron efecto insecticida y repelente de diferentes especies de plagas de insectos, así como efecto fungistático en hongos fitopatógenos bajo condiciones de laboratorio.

6. RECOMENDACIONES

1. Realizar bioensayos de actividad insecticida, repelente y fungistática de los extractos de hojas y flores de “Llama del bosque” en invernaderos, viveros y, posteriormente, en el campo definitivo sobre las mismas especies de plagas de insectos y fitopatógenos evaluados en esta investigación, en los cultivos afectados por estas plagas y considerar el uso de extractos en un programa de manejo integrado de plagas en café, frutales, maíz y hortalizas.
2. Para evitar efectos insecticidas de los extractos sobre abejas se debe evitar hacer aplicaciones de extractos en la fase de floración de los cultivos que tengan un alto grado de polinización entomófila.
3. Realizar bioensayos de actividad insecticida o fungistática con artrópodos benéficos u hongos entomopatógenos.
4. Implementar bioensayos de actividad insecticida y fungicida con otras partes de la planta como extractos de corteza y néctar de las flores.
5. Realizar plantaciones de “Llama del bosque” para disponer de materia prima para extractos de hojas, flores y néctar en cercas de fincas y áreas marginales alejadas de apiarios.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alfaro F.; Llorens J.; Moner, P. (1998). Tratamientos terrestres contra la mosca de las frutas en cítricos. Serie Citricultura No. 1. Área de Protección de Cultivos, Dirección General de Investigación, Desarrollo Tecnológico y Sanidad Vegetal. Generalitat Valenciana, España, p 2.
- Andrews, K.L.; Quezada, J.R. (1989). Manejo Integrado de Plagas Insectiles en la Agricultura. Escuela Agrícola El Zamorano, Honduras, pp. 3-20.
- Araujo, E.C.; Silveira, E.R.; Lima, M.A.; Neto, M.A.; de Andrade, I.L.; Santiago, G.M.; Mesquita, A.L. (2003). Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. J Agric Food Chem. 51:3760-3762.
- Barnett, H. (1960). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Company. 2da. Ed. United States of America, pp 62-63, 112-113.
- Bayercropscience (2002). Citado en línea el 25/09/2013
www.bayercropscience.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/id/gcogolleropests.bcs.
- Bito, D. (2007). An alien in an archipelago: *Spathodea campanulata* and the geographic variability of its moth (Lepidoptera) communities in New Guinea Bismarck Islands. Journal of Biogeography, 34: 769-778.
- Castaño, Z.; Del Rio, M. (1994). Guía para el diagnóstico y control de las enfermedades en cultivos de importancia económica. Zamorano Academic Press. 3ra. Ed. Honduras, pp 55-56; 189-190.
- Chapilliquen, R. (2000). Ensayo preliminar para el control ecológico de broca del café mediante la aplicación de extractos vegetales. En Red de Acción Alternativa al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú. pp. 147- 150.
- Chen, J.; Chiu, M.; Nie, R.; Cordell, G.; Qiuc, S. (2005). Cucurbitacins and Cucurbitane Glycosides: Structures and Biological Activities, Natural Products Reports 22: 386-399.
- Cintra, P.; Malaspina, O.; Bueno, O.C.; Petacci, F.; Fernández, J.B. (2002). Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers or *Apis mellifera*. Journal of Brazilian Chemical Society. 13: 115-118.
- Connolly, J.; Hill, R. (2002). Triterpenoids, Natural Products Reports, 19: 494-513.

- Cubas, R. (1995). Control de *Sitophilus oryzae* L. (Coleóptera: Curculionidae) en maíz almacenado mediante el uso de aceites esenciales. En Valencia, L. & De la Peña, E. Aportes al manejo ecológico de cultivos. Red de Acción Alternativa al uso de Agroquímicos (RAAA), Lima, Perú. pp. 97-99.
- Davis, A. R.; Pylatuik, J.D.; Poradis, J.C.; Low, N. H. (1998). Nectar carbohydrate and composition vary in relation to nectar anatomy and location within individual flowers of several species of Brassicaceae. *Planta*. 305-318.
- Das, A. Dhanobalan, R.; Doss, A. (2009). *In Vitro* Antibacterial Activity of two medicinal plants against Bovine Udder Isolated Bacterial Pathogens from Dairy Herds. *Ethnobotanical Leaflets*. 13: 152-158.
- De la Torre, A.; Nogueiras, C.; Carballo, C.; Palacios, J.; Chamizo, E.; Ramada, R. y Cruz, A. (2010). Estudio preliminar y actividad fungicida de corteza de *Maytenus urquiolae* Mory (Celastraceae). *Rev. Fitosanidad*, Vol. 14 (4): 247-252.
- Flach, A. (2005). Ecología química de Maxillariinae, *Spathodea campanulata* e Meliponninae. Tese Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 202 p. São Paulo, Brasil.
- Fraga, B. M. (2003). Natural Sesquiterpenoids, *Natural Products Reports* 20: 392-413.
- Francis, J. (1990). *Spathodea campanulata* Beav., Tulipán Africano. Departamento de Agricultura, Forest Service, Southern Forest Experimental Station. Artículo de investigación SO-ITF-SM-32, New Orleans, USA. pp 484-487.
- Fritz, R. & Simms, E. (1992), *Plant resistant to herbivores and pathogens*, University of Chicago Press, Chicago, USA. 577 p.
- García, J.E. (1997). Introducción a los plaguicidas. Editorial Universidad Estatal a Distancia, Costa Rica. pp 1-13.
- García, M.; Costa, C.; Ferragut, P. (1994). *Plagas Agrícolas*. 2da. Ed. Edit. Phytoma, España, pp 80 -81.
- Hawkeswood, T. (1990). Observations on the biology, host plants and immature stages of *Dihammus tincturatus* Pascoe (Coleoptera: Cerambycidae: Lamiinae) in Papua New Guinea. Part 1. General biology and host plants. *G. Ent.*, 5: 95-101.

- Hellpap, C. (2000). El desarrollo de un plaguicida botánico. Pasos necesarios en plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Editorial Gráfica Sttefany, S.R. Ltda., Lima, Perú. pp 75-81.
- Hill, D. (2008). Pest of crops in warmer climates and their control. Springer. United Kingdom, pp 232-271.
- Hoos, R. (2000). Resistencia vegetal frente a plagas y enfermedades en plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo, pp. 47-59.
- Lenza, Ch.; Avramides, E. (2001). Determination of residues of endosulfan and piretroid insecticides in virgin oliven oil. Journal of Chromatography A, 921-927.
- Levison, H.; Levison, A., (1998). Control of stored food pests in the ancient Orient and classical antiquity, Journal of Applied Entomology 122, 137-144.
- Llontop, J.; Díaz, A.; Carreño, A. (1995). Potencial de microorganismos y extractos vegetales como biocontroladores de plagas y fitopatógenos. En Aportes al manejo aportes al manejo ecológico de cultivos. RAA. pp 159-197.
- Makinde, J.M.; Adesogan, E.K.: Amusan, O.O. (1987). The Schizontocidal activity of *Spathodea campanulata* leaf extract on *Plasmodium berghei berghei* in mice. Phytoterapy Research. 1 (2): 65-68.
- Makinde, J.M.; Amusan, O.O.: Adesogan, E.K.(1998). Antimamalarial Active of *Spathodea campanulata* Steam Bark. Planta Médica. Vol. 10(8): 692-693.
- Matthews, G.A. (1993). Insecticide application in stores. In: Mattews, G.A., Hislop, E.C. (Eds.), Application Technology for Crop Protection. CAB International, Wallingford, UK, pp. 305-315.
- Mohan, S.; Fields, P. (2002). A Simple technique to asses compounds that are repellent or attractive to stored-product insects. Journal of Stored Products Research 38: 23-31.
- Miller, P. S. (1995). Guía para la identificación de árboles comunes. Para técnicos forestales de Guatemala. Manual de USDA, Forest Service. pp. 74-75.
- Ngouela, S.; Nyasse, B.; Tsamo, E.; Sondengam, B.L.; Connolly, J.D. (1990). Spathodic acid: a triterpene acid from the stem bark of *Spathodea campanulata*. Plant Physiology and Biochemistry. 29 (12): 3959-3961.

- Palacios, F, F.Y.; Gladstone, S. (2003). Eficacia del farnesol y de un extracto de semilla de ayote como repelentes de *Atta mexicana*. Efficacy of farnesol and a pumpkin seed extract as repellents of *Atta mexicana*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (CATIE). Jun (68), pp. 89-91.
- Pérez, M. (2012). Pesticide activity of esencial oils, extracts and plant material of *Chrysanthemum coronarium* L.). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. España, 145 p.
- Pianaro, A.; Pereira, J.; Trevisan, D.; Kazue, N.; Braz-Filho. (2007). Iridoidglucoside and antifungal phenolic compounds from *Spathodea campanulata* roots. *Semina: Ciências Agrárias*, 28, (2), 251-256.
- Portugal-Araujo, V. (1963). O perigo de dispersão da Tuliperira do Gabão (*Spathodea campanulata* Beauv), Chácaras e Quintais. 107: 562-563.
- Prieto, J.; Pabon, L.; Patino, O.; Delgado, W., y Cuca L. (2010). Constituyentes químicos, actividad insecticida y antifúngica de los aceites esenciales de hojas de dos especies colombianas del género *Ocotea* (Lauraceae). *Rev. Colomb. Quim.* Vol 39 (2). 14 p.
- Quispe, F.; Lock, O. (2000). Actividad Antialimentaria de extractos, fracciones y metabolitos de *Argemone mexicana* L. Plantas con potencial biocida. Metodologías y experiencias para su desarrollo. Editorial Gráfica Sttefany, S.R. Ltda., Lima, Perú. pp 83-102.
- Romeu, C.; Ferret, E. y Finalé, Y. (2007). Caracterización fitoquímica del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y evaluación *in vitro* de su actividad acaricida. *Rev. Fitosanidad*, Vol. 11 (2): 75-78.
- Rosenstein, E. (1993). Diccionario de Especialidades Agroquímicas. pp. 140-141, 412- 413, 625-626. México.
- Rother, D.; Souza, T.; Malaspina, O.; Bueno, O.; Dasila, F.; Vieira, P.; Fernandez, J. (2009). Susceptibilidade de operárias e larvas de abelhas sociais em relação à ricinina. *Iheriengia, Sér. Zool.* 99(1): 61-65.
- Saunders, J.; Coto, D.; King, A. (1988). Plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. CATIE. Manual Técnico No. 29. Costa Rica. pp 52, 133-136.
- Segantini, BM; Romano, F.C.; Ribeiro, C.C. (2002). Efeito insecticida de extracto aquoso da folhas de *Spathodea campanulata* (Bignoniaceae) em

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) Lepidóptera: Noctuidae em Laboratório. Artigo do Faculdade Cantareira, SP. Brasil. Abstract.

Silva, A.; Marçal, M.; Bichara, M.; Cunha, R. (2009). Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas, *Acta Amazônica* 39 (2), Brasil. Abstract.

Silva, L.; Hasse, I; Moccelin, R.; Zboralski, A. (2007). Arborização de vias públicas e a utilização de espécies exóticas o caso do Barrio Centro de Pato Branco/PR. *Scientia Agraria*, v. 8(1): 47-53.

Subramanyam, Bh.; Hagstrum, D. (1995). Resistance measurement and management. In: Subramanyam, Bh., Hagstrum, D. (Eds.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 331-398.

Torres, E.; Velásquez G.; Rios, D.; Vásquez M.; Penilla, N.; Rodriguez, A. (2010). Toxicity of *Spathodea campanulata* P Beauvoir (Scrophulariales: Bignoniaceae) aqueous extracts against immature stages of *Anopheles albimanus* (Díptera: Culicidae) under laboratory conditions. *Research and Reports in Tropical Medicine*. 1: 83-87.

Trigo, J. R.; Santos, W.F. (2000). Insect Mortality in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae) Flowers. *Rev. Bras. Biol.* Vol. 60 (3): 537-538.

Zangerl, A. R. & Bazzas, F. A. (1993). Theory and pattern in plant defense allocation. In: R. S. Fritz & E.L. Simms (Eds). *Plant resistance to herbivores and pathogens*. University of Chicago Press, Chicago. USA.

8. ANEXOS

Cuadro 5. Informe de diagnóstico entomológico de insectos colectados en flores de “Lama del bosque”.



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Facultad de Agronomía



REF. 03-DIC2010

RESULTADO DE DIAGNÓSTICOS ENTOMOLÓGICOS

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

TIPO DE MUESTRA:

Adultos de insectos asociados Llama del bosque (*Spathodea campanulata*), obtenidos a través de muestreos en la flores de dicho árbol.

PROCEDENCIA. Todos los insectos proceden del departamento de Suchitepéquez.

RESPONSABLE. Ing. Agr. Reynaldo Alarcón Noguera

CUADRO DE RESULTADOS

Grupo Taxonómico /Fecha de muestreo	19 agosto 2010	22 noviembre 2010
Coleóptera		
Chrysomelidae (<i>Diabrotica</i> sp.)	1 individuo	-
Scolytidae	-	5 individuos
Dermáptera		
Forficulidae	1 individuo	-
Diptera		
Sciaridae	-	3 individuos
Tephritidae (<i>Ceratitis capitata</i>)	1 individuo	-
Homóptera		
Pseudococcidae (<i>Pseudococcus</i> sp)	1 individuo	-
Hymenóptera		
Apidae	17 individuos	30 individuos
<i>Nannotrigona perilampoides</i> , <i>Partamona bilineata</i> , <i>Plebeia frontalis</i> , <i>P. moureana</i> , <i>P. jatiformis</i> , <i>Trigona (Tetragonisca) angustula</i> ,		
Formicidae	6 individuos	1 individuo

Atentamente

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Filadelfo Guevara Chávez,
Ing. Agr. Col. 1656 Responsable

Informe de diagnóstico de abejas meliponas encontradas en flores de "Llama del bosque".



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA
FACULTAD DE CC. QQ. Y FARMACIA
CENTRO DE ESTUDIOS CONSERVACIONISTAS
— C E C O N —

Guatemala, 13 de enero de 2011

Ingeniero
Reynaldo Alarcón Noguera

Estimado Ingeniero:

Esperando que se encuentre cosechando éxitos en cada una de sus actividades diarias, me dirijo a usted para hacer constar la entrega de los resultados obtenidos de la identificación taxonómica de los especímenes de abejas que fueron remitidos a la Unidad de Biodiversidad del Centro de Estudios Conservacionistas CECON.

El primer recipiente con datos de colecta, Retalhuleu, 642443 1607458 a 245msnm, sobre *Spathodea campanulata* el 22/11/2010, contenía especímenes de las siguientes especies:

Trigona (Tetragonisca) angustula
Partamona bilineata
Nannotrigona perilampoides
Plebeia moureana
Plebeia jatiformis

El segundo recipiente con datos de colecta Suchitepéquez, Mazatenango, 659769.96 1607435.45 a 377msnm, sobre *Spathodea campanulata* el 19/08/2010, contenía especímenes de las siguientes especies:

Plebeia moureana
Plebeia frontalis

A común acuerdo, estos especímenes formarán parte de la Colección de Referencia de Abejas Nativas de la Unidad para posteriores consultas.

Sin nada más que hacer constar me suscribo de usted,

Atentamente,

ID Y ENSEÑAD A TODOS


Biol. Ana Gabriela Herms-Quinonez

Investigadora
Unidad de Biodiversidad, CECON
Universidad de San Carlos de Guatemala

CENTRO DE ESTUDIOS CONSERVACIONISTAS
C E C O N
Avenida de La Reforma 0-63, Zona 10
Teléfonos: 310904-347662, Fax: 347664
Guatemala, Centro América

Cuadro 7. ANDEVA para brocas muertas a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	4	4.136292	1.034073	5.737	0.012
ERROR	10	1.80246	0.180246		
TOTAL	14	5.938751			

Referencias: FV = Fuente de variación. GL= Grados de libertad. SC = Sumatoria de cuadrados. CM = Cuadrado medio. F = Valor tabular de Fisher. P = probabilidad.

Cuadro 10. ANDEVA para brocas muertas a las 24 horas después de la aplicación de los tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	4	1.555809	0.388952	4.6056	0.023
ERROR	10	0.844521	0.084452		
TOTAL	14	2.40033			

Referencias: FV = Fuente de variación. GL= Grados de libertad. SC = Sumatoria de cuadrados. CM = Cuadrado medio. F = Valor tabular de Fisher. P = probabilidad.

Cuadro 13. ANDEVA para moscas muertas a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	4	5.385818	1.346455	49.2473	0.0001
ERROR	10	0.273407	0.027341		
TOTAL	14	5.659225			

Referencias: FV = Fuente de variación. GL= Grados de libertad. SC = Sumatoria de cuadrados. CM = Cuadrado medio. F = Valor tabular de Fisher. P = probabilidad.

Cuadro 16. ANDEVA para moscas muertas a las 72 horas después de la aplicación de los tratamientos.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	4	0.35965	0.089912	2.5806	0.102
ERROR	10	0.348419	0.034842		
TOTAL	14	0.708069			

Referencias: FV = Fuente de variación. GL= Grados de libertad. SC = Sumatoria de cuadrados. CM = Cuadrado medio. F = Valor tabular de Fisher. P = probabilidad.

Cuadro 21. ANDEVA para los “gusanos cogolleros” muertos a las 12 horas.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	4	1.165253	0.291313	3.1396	0.065
ERROR	10	0.927856	0.092786		
TOTAL	14	2.093109			

Referencias: FV = Fuente de variación. GL= Grados de libertad. SC = Sumatoria de cuadrados. CM = Cuadrado medio. F = Valor tabular de Fisher. P = probabilidad.

Cuadro 25. ANDEVA de los resultados de insectos escapados a las 2 horas después de liberados en los tratamientos.

F. V.	G. L.	Σ Cuadrados	Cuadrado medio	F. calculada	F. tabulada
Tratamientos	2	76.75	38.38	5.63	0.011
Error	21	143.25	6.82		
Total	23	220.00			

Cuadro 27. ANDEVA de los resultados de insectos escapados a las 17 horas después de liberados en los tratamientos.

F. V.	G. L.	Σ Cuadrados	Cuadrado medio	F. calculada	F. tabulada
Tratamientos	2	116.58	58.29	6.94	0.005
Error	21	176.38	8.40		
Total	23	292.96			

Cuadro 30. Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a una hora después de la aplicación.

F. V.	G. L.	Σ Cuadrados	Cuadrado medio	F. calculada	F. tabulada
Tratamientos	6	0.8926	0.1488	4.55	0.009
Error	14	0.4575	0.0327		
Total	20	1.3502			

Cuadro 32. Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a las dos horas después de la aplicación.

F. V.	G. L.	Σ Cuadrados	Cuadrado medio	F. calculada	F. tabulada
Tratamientos	6	11.820	1.970	13.44	0.000
Error	14	2.052	0.147		
Total	20	13.871			

Cuadro 34. Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a las 6 horas después de la aplicación.

F. V.	G. L.	Σ Cuadrados	Cuadrado medio	F. calculada	F. tabulada
Tratamientos	6	12.478	2.080	11.33	0.000
Error	14	2.570	0.184		
Total	20	15.048			

Cuadro 36. Resultados del ANDEVA de la actividad insecticida de “Llama del bosque” con “gorgojos del maíz”, a las 12 horas después de la aplicación.

F. V.	G. L.	Σ Cuadrados	Cuadrado medio	F. calculada	F. tabulada
Tratamientos	6	12.034	2.006	11.31	0.000
Error	14	2.482	0.177		
Total	20	14.517			



Figura 21. Ubicación geográfica de la ciudad de Mazatenango, y del sitio donde se estableció el proyecto.

Acta de Defensa de Trabajo de Tesis

Énfasis: Sistema de Producción Agrícola.

Estudiante: Reynaldo Alarcón Noguera.

N° de Carnet: 0000685847

Estudiante del Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo.

A las 01:00 p. m. del jueves 06 de febrero de 2014, se presenta en la sala de la Escuela de Topografía, Universidad Nacional, Heredia, el aspirante de referencia, ante un tribunal del programa de Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo, para realizar su disertación y defensa de Tesis.

Tribunal evaluador:

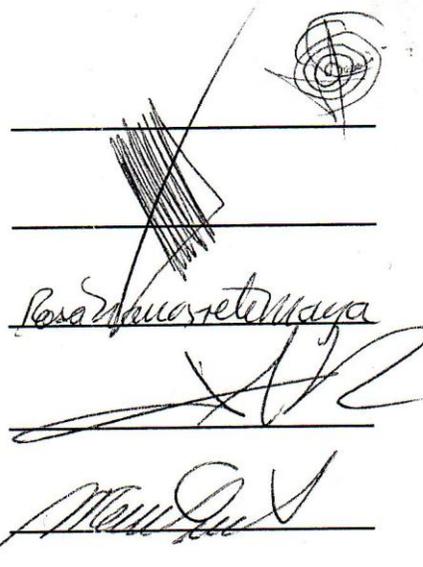
1. Dr. Guillermo Penieres Carrillo, Director de Tesis

2. Dr. Tomás Guzmán Hernández, Asesor de Tesis

3. Dra. Rosa Navarrete Maya, Asesor de Tesis

4. Dr. Freddy Araya Rodriguez, Coord. DOCINADE

5. Dr. Víctor Hugo Fallas Araya,
Representante de Posgrados, UNED.



El título de la Tesis es:

"Efecto insecticida, repelente y fugistático de extractos de hojas y flores de Llama del bosque (Spathodea campanulata Beauv).

La disertación y defensa concluyen a las: 2:30

Luego de realizada la evaluación del trabajo de tesis, la defensa y las respuestas a las preguntas realizadas a la aspirante por parte del tribunal evaluador, se le otorga la nota final de: 10.

De manera que por haber cumplido con lo establecido con el reglamento del programa en el artículo 15, inciso c, que establece lo siguiente:

- Tener aprobadas las asignaturas obligatorias y optativas del énfasis, estipuladas en el plan de estudios.
- Tener aprobado el curso de especialidad o examen de candidatura.
- Presentación de una constancia de los departamentos de idiomas de las Universidades participantes que acredite el dominio del un idioma extranjero.
- Presentación de copias de dos artículos científicos publicados o en proceso de publicación con la nota de aceptación (o un libro sobre el tema de investigación). Podrán considerarse también invenciones y patentes de nuevas tecnologías.
- Presentación de tres avales de especialistas en el tema de la tesis, que den el visto bueno para su defensa.
- Haber concluido satisfactoriamente la pasantía.

Se le otorga al aspirante, Reynaldo Humberto Alarcón Noguera el grado de Doctor en Ciencias Naturales para el Desarrollo en el Sistemas de Producción Agrícola.

Se le otorga la Mención honorífica de distinción, por haber

obtenido un promedio ponderado en la carrera de 10 y 00 puntos.

