UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

BÚSQUEDA DE ACTIVIDAD INSECTICIDA DE PLANTAS TROPICALES CONTRA ÁFIDOS

PRESENTADO POR:

RAMY JHASSER MARTÍNEZ BASO

8.940-2385

TESIS PRESENTADA COMO UNO DE LOS REQUISITOS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOLOGÍA CON ORIENTACIÓN EN ZOOLOGÍA

ASESOR DE TESIS:

DRA. DORA QUIRÓS

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2021

Asesor (Dra. Dora Quirós)

Co-Asesor (Dra. Lilia Chérigo)

Co-Asesor (Dr. Daniel Emmen)

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a todos aquellos que creyeron en mí, a aquellos que esperaban que siguiera cada día con la culminación de mis estudios, a aquellos que esperaban que lograra terminar la carrera, a todos aquellos que nunca quisieron que me rindiera a medio camino, a todos los que sabían que lo lograría, a todos ellos les dedico esta tesis.

AGRADECIMIENTO

Dra Dora, Dr Daniel y Dra Lilia sin ustedes y sus virtudes, su paciencia y constancia este trabajo no lo hubiese logrado. Sus consejos fueron siempre útiles cuando no salían de mi pensamiento las ideas para escribir lo que hoy he logrado. Ustedes formaron parte importante de esta historia con sus aportes profesionales que los caracterizan. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más las necesite; por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas. Gracias por sus orientaciones.

A mis docentes, sus palabras fueron sabias, sus conocimientos rigurosos y precisos, a ustedes mis profesores, les debo mis conocimientos. Donde quiera que vaya, los llevaré conmigo en mí transitar profesional. Su semilla de conocimientos germinó en mi alma y espíritu. Gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por su dedicación, perseverancia y tolerancia.

A mis amigos y familiares. Gracias por estar siempre allí.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA III

AGRADECIMIENTO IV

ÍNDICE GENERAL VI

ÍNDICE DE TABLAS VIII

ÍNDICE DE FIGURAS IX

RESUMEN 1

SUMMARY 2

1. INTRODUCCIÓN 3

2. OBJETIVOS 7

2.1 Objetivo general 7

2.2 Objetivos específicos 7

3. MARCO TEÓRICO 8

3.1 Descripción del organismo bajo estudio 8

Aphis gossypii 8

3.1.1 Distribución 8

3.1.2 Importancia económica 8

3.1.3 Morfología 9

3.1.4 Biología y hábitos 9

3.1.5 Control químico 10

3.1.6 Control biológico 10

3.2 Uso de extractos botánicos 11

3.3 Importancia del uso de extractos 11

3.4 Descripción de las plantas bajo estudios 13

Eschweilera jefensis J.E. Bat. & S.A. Mori……. 13

3.4.1 Taxonomía……...13

3.4.2 Morfología……...13

3.4.3 Distribución…….14

3.4.4 Metabolitos secundarios……..14

Sphagneticola trilobata (L.) Pruski……..14

3.4.6 Taxonomía……...14

3.4.7 Morfología……...15

3.4.8 Distribución…….15

3.4.9 Metabolitos secundarios……..15

3.4.10 Antecedentes de actividad insecticida……...16

Selaginella horizontalis (C. Presl) Spring……...16

3.4.11 Taxonomía……16

3.4.12 Morfología……17

3.4.13 Distribución……..17

3.4.14 Metabolitos secundarios……...17

4. METODOLOGÍA……...19

4.1 Colecta de las plantas……19

4.2 Identificación de las plantas……..20

4.3 Colecta de los insectos……..21

4.4 Identificación de los insectos..... 21

4.5 Preparación de extractos etanólicos……...21

4.6 Bioensayos..... 22

4.7 Análisis estadístico…….23

5 RESULTADOS…….25
6 DISCUSIÓN……..33

7 RECOMENDACIÓN……....38

9 LITERATURA CITADA……..39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad de Aphis gossypii y el error estándar a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación de los extractos etanólicos de las plantas evaluadas……24

Tabla 2. Estadística descriptiva. Supervivencia (# de individuos) bajo diferentes extractos considerando el órgano de origen 25

Tabla 3. Prueba Kruskal-Wallis. 27

Tabla 4. Prueba de Dunns para comparación por grupos 27

Tabla 5. Comparación de cada órgano vegetal, especie, dosis y LC50. 30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa con las dos localidades donde se colectaron las plantas; punto azul (Parque Natural Metropolitano), punto rojo (Cerro Azul) 19

Figura 2. Pasos para la preparación de los bioensayos 22

Figura 3. Porcentaje de mortalidad por especie de planta y por órgano analizado (tallo, hoja) a las 24, 48 y 72 horas de aplicado el extracto a las hojas 26

Figura 4. Comparación de Supervivencia (# de individuos) bajo diferentes extractos considerando el órgano de origen. Las barras muestran las medianas y error estándar de cada grupo analizado 28

Figura 5. Prueba de Fisher para comparar la superbvivencia y la mortalidad de los áfidos ante los diferentes extractos contrastado con el control positivo y el control negativo 30

RESUMEN

Aphis gossypii es una plaga primaria de vegetales como el tomate y otros productos agrícolas que causa daño directo a través de la alimentación e indirectamente a través de la transmisión de virus fitopatógenos, principalmente Begomovirus. En la región de Azuero, las infecciones virales transmitidas por insectos pueden afectar hasta el 75 % del cultivo del tomate industrial. Uno de los problemas que enfrentan los agricultores actualmente es la baja eficiencia de los insecticidas disponibles debido a la variabilidad genética de las poblaciones de *A. gossypii* y al desarrollo de resistencia. Una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos es la búsqueda de extractos vegetales con actividad insecticida producidos por las plantas silvestres de nuestros bosques tropicales, que puedan ser preparados y aplicados fácilmente por los agricultores. Con esta investigación se buscó definir la actividad insecticida de extractos etanólicos de tres especies de plantas panameñas sobre las ninfas y adultos de *A.gossypii*. Se evaluó la mortalidad a las 24, 48 y 72 horas, después de aplicar tres dosis de cada extracto (25, 50 y 100 ug/L) sobre hojas de *Chatarantus roseus.* La prueba de Kruskal-Wallis determinó diferencias entre los grupos (p=0.02378). El extracto de las hojas de *E. jefensis,* mostró la mayor toxicidad, seguido por los extractos de las hojas de *S. trilobata* y las hojas de *S. horizontalis.* Los tallos fueron menos activos. La combinación de diversas tecnologías, como herramientas genéticas y genómicas, mejorará nuestra comprensión de los mecanismos moleculares de defensa de las plantas contra insectos herbívoros y nos permitirá hacer un uso más racional de los metabolitos secundarios producidos por las plantas.

SUMMARY

Aphis gossypii is a primary pest of vegetables such as tomatoes and other agricultural products where it causes direct damage through food and indirectly through the transmission of phytopathogenic viruses, mainly Begomovirus. In the Azuero region, viral infections transmitted by insects can affect up to 75% of the industrial tomato crop. One of the problems that farmers currently face is the low efficiency of the available insecticides due to the genetic variability of *A. gossypii* populations and the development of resistance. An alternative to the use of synthetic pesticides is the search for plant extracts with insecticidal activity produced by the wild plants of our tropical forests, which can be easily prepared and applied by farmers. This research sought to define the insecticidal activity of ethanolic extracts of three species of Panamanian plants on nymphs and adults of *A.gossypii*. Mortality was evaluated at 24, 48 and 72 hours, after applying three doses of each extract (25, 50 and 100 ug / L) on *Chatarantus roseus* leaves. The Kruskal-Wallis test determined differences between the groups ($p = 0.02378$). The extract of the leaves of *E. Jefensis* showed the highest toxicity, followed by the extracts of the leaves of *S. trilobata* and the leaves of *S. horizontalis*. The stems were less active. The combination of various technologies, such as genetic and genomic tools, will improve our understanding of the molecular defense mechanisms of plants against herbivorous insects and will allow us to make a more rational use of the secondary metabolites produced by plants.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, se estima que las pérdidas causadas por artrópodos, enfermedades y malezas representan alrededor del 35 % en los principales cultivos, pero pueden superar el 50 % en los países en desarrollo donde el control de plagas es todavía muy deficiente (Abate et al., 2000; Lingappa et al., 2004; Oerke, 2006; Grzywacz et al., 2014). Aunque los componentes del manejo integrado de plagas son ahora ampliamente aplicados y/o conocidos en los países desarrollados y en transición, la dependencia de pesticidas sintéticos para controlar los brotes de plagas sigue siendo alta (FAO, 2013; Farrar et al., 2016; Vasileiadis et al., 2017). Adicionalmente, agentes de control biológico o pesticidas naturales, a menudo no están disponibles y también pueden ser costosos (Amoabeng et al., 2014; Dougoud et al., 2018). En Panamá los cultivos de Cucurbitácea (melón, sandía, zapallo y pepino) y de Solanaceae (tomate y papa) tienen gran importancia comercial tanto para el consumo local como para la exportación. En la actualidad existen 450 hectáreas de sandía, 105 hectáreas de tomate, 82.5 de melón y 50 de zapallo cultivadas para exportación y consumo local (El Capital Financiero, 2021). Todos estos cultivos son susceptibles al ataque de insectos fitosuctívoros como los áfidos y mosca blanca. El daño causado por los pulgones incluye la succión de savia de la planta mediante la perforación del tejido vegetal con sus estiletes bucales, además de la transmisión de enfermedades virales desde plantas infectadas a plantas sanas (Sánchez et al., 2001). Además, los pulgones tienen una alta capacidad reproductiva con un rápido incremento de su población em corto tiempo. Como consecuencia de su forma de alimentación los pulgones segregan gran cantidad de melaza que promueve el crecimiento

de hongos sobre la superficie de las hojas inhibiendo la fotosíntesis y provocando la marchitez y la muerte de las plantas. Estos factores provocan una disminución del rendimiento y la calidad de los productos con grandes pérdidas económicas (Sánchez et al., 2001).

Los áfidos son plagas severas en Centroamérica desde hace décadas y la práctica actual de los productores nacionales implica varias aplicaciones de plaguicidas para suprimir las plagas primarias en los cultivos. Dado que los pulgones demuestran una alta variabilidad genética, tienen tiempos de generación cortos y además desarrollan resistencia rápidamente. Los tratamientos con pesticidas pueden causar poca mortalidad a los pulgones debido a su forma de alimentación y a su ubicación sobre la planta que los protege de las aplicaciones habituales. Por otro lado, dosis más altas y mayor frecuencia de aplicaciones de pesticidas también aumentan la resistencia de los pulgones (Pedigo, 1996). *Bemisia tabaci* al igual que *Aphis gossypii* son insectos fitosuctívoros, que se alimenta del floema. *A. gossypii* es una plaga considerable de plantas ornamentales, vegetales, leguminosas y algodón, causando daño directo a través de la alimentación e indirectamente a través de la transmisión de virus fitopatógenos, principalmente (Godfrey et al., 1997; Jones, 2003). *A. gossypii* se considera una de las especies de pulgones más peligrosas que se distribuye en todo el mundo e infesta una gran cantidad de plantas entre ellas el tomate. Este áfido ha sido previamente registrado como el vector más importante de los cuatro virus encontrados en cultivares de melón en Costa Rica: PRSV, WMV-2, CMV y ZYMV (Rivera et al., 1993).

Como resultado de las interacciones que ocurren entre las plantas y otros organismos, especialmente insectos, las especies vegetales producen una amplia y diversa gama de metabolitos secundarios para protegerse del ataque de los herbívoros, los cuales pueden resultar ser buenos controladores de insectos plaga. Los grupos más grandes de metabolitos secundarios son compuestos que contienen nitrógeno (incluidos alcaloides, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos y benzoxazinoides (Kaur & Arora, 2015), terpenoides (incluidos mono y sesquiterpenoides, glucósidos y saponinas (Singh & Sharma, 2015) y fenólicos (incluidos flavonoides, antocianinas, fitoalexinas y taninos (Kumar & Pandey, 2013). Muchos de estos compuestos actúan como repelentes o toxinas para los herbívoros o reducen la digestibilidad de las plantas (Kaur & Arora, 2015). El uso de extractos botánicos puede ser una forma particularmente apropiada de suplir la necesidad que existe de pesticidas más seguros para los seres humanos y el medio ambiente y al mismo tiempo permitiría disminuir los costos de producción y mejorar la calidad de las cosechas en los países en desarrollo. Estos productos son generalmente, sustancias biodegradables y su utilización contribuye a disminuir los residuos tóxicos en los productos de las cosechas, lo cual es particularmente importante en la producción de alimentos orgánicos. En varios países la aplicación de plaguicidas botánicos ha dado buenos resultados en el manejo de insectos que afectan diversos cultivos (Hilje, 2001; Dayan et al., 2009). Entre las familias botánicas más estudiadas con propiedades insecticidas se encuentran Meliaceae, Asteraceae, Fabaceae y Lamiaceae, debido a que agrupan un número elevado de especies, y varias de ellas se identifican como fuente de productos naturales bioactivos (Castillo et al., 2009). En Panamá se han evaluado extractos botánicos de 27 especies de plantas pertenecientes a 16 familias

botánicas y se encontraron diferentes niveles de toxicidad contra insectos fitosuctívoros; tres de estas especies causaron mortalidades por encima del 70 % en áfidos (Quirós et al., 2006). El objetivo de este trabajo es descubrir nuevos extractos botánicos para contribuir en la búsqueda de una solución a las grandes pérdidas económicas que *A. gossypii* y otros insectos fitosuctívoros están causando como plaga a nivel nacional, regional y mundial.

CAPITULO 2

OBJETIVOS

2.1 General

Determinar la actividad insecticida de extractos etanólicos de tres especies de plantas panameñas sobre adultos y ninfas de cuarto estadio de *Aphis gossypii*.

2.2 Específicos

1. Determinar la actividad insecticida *in vitro* de los extractos etanólicos de las plantas seleccionadas contra los adultos y ninfas de cuarto estadio *de A. gossypii.*
2. Identificar el extracto con mayor bioactividad contra áfidos
3. Determinar la dosis de mayor efectividad contra el áfido en estudio.

CAPITULO 3

MARCO TEÓRICO

3.1 Descripción del organismo bajo estudio *Aphis gossypii* Glover, 1877

3.1.1 Distribución

Esta especie es posiblemente de origen paleártico y actualmente es cosmopolita. En América se distribuye desde Estados Unidos hasta Argentina y en Panamá está distribuida en las provincias de Chiriquí, Coclé, Los Santos, Panamá y Veraguas (Quirós et al., 2009), aunque debe estar distribuida a nivel nacional por ser fácilmente diseminada por el viento debido a su pequeño tamaño y a su capacidad de volar.

3.1.2 Importancia económica

Es un insecto fitosuctívoro, que se alimenta del floema de una gran variedad de familias de plantas muchas de las cuales tienen gran importancia económica tales como Cucurbitaceae, Crucifereae, Solanaceae y Malvaceae. Es una plaga considerable de productos ornamentales, vegetales, leguminosas de grano y algodón, causando daño directo a través de la alimentación e indirectamente a través de la transmisión de virus fitopatógenos (Godfrey et al., 1997; Jones, 2003). Las plantaciones agrícolas afectadas merman su producción por la pérdida de nutrientes ante el desarrollo de enormes colonias de áfidos especialmente durante la época seca.

3.1.3 Morfología

Estos insectos miden alrededor de 2 mm de largo. En los adultos alados y ápteros la cabeza y el torax son de color negro, resto del cuerpo de color verdoso, amarillo o verde oscuro, en algunas ocasiones negruzco con sus sifúnculos, cauda y la parte apical de las antenas de color marrón u oscuro. Las ninfas varían de amarillo pálido a un verde pálido, según la planta hospedera. (Voegtlin et al., 2004).

3.1.4 Biología y hábitos

En los trópicos la familia Aphididae forma grandes poblaciones de hembras partenogenéticas vivíparas durante todo el año, a diferencia de las regiones templadas donde existen hembras y machos cuyo comportamiento reproductivo y cópulación es influido por el fotoperiodo o la temperatura (Razmjou et al., 2010). *Aphis gossypii* pasa por cuatro etapas de desarrollo antes de convertirse en adulto. Según Ebert y Cartwright (1997), las ninfas de primera y segunda etapa tienen cuatro y cinco segmentos antenales, respectivamente. La segunda y tercera ninfas son muy similares en apariencia, mientras que las ninfas de la tercera etapa tienen almohadillas o tecas alares pequeñas en las formas aladas o carecen de ellas en las formas ápteras. Las ninfas de la tercera etapa no tienen setas en el margen de la placa genital, mientras que las ninfas de la cuarta etapa las tienen. Además, las alas en desarrollo de las ninfas de cuarta etapa son claramente visibles en las formas aladas. En Panamá, Fuertes (1978), encontró que a 27.2º C *A. gossypii* tiene un periodo ninfal de 5.26 días, y los adultos un rango de 6.07 días con un ciclo completo de 11.33 días el cual aumenta dependiendo de la temperatura en cambio el ciclo completo puede durar hasta 27 días en condiciones de

laboratorio a 23.9º C (Domínguez et al., 2004). En climas cálidos puede haber muchas generaciones al año lo cual agrava el daño económico sobre los cultivos.

3.1.5 Control Químico

Habitualmente los áfidos son controlados con insecticidas organofosforados (Shaw, 1999), sin embargo *A. gossypii* desarrolla rápidamente resistencia a los principales grupos de insecticidas. Los primeros reportes sobre la resistencia de estos organismos frente a los controladores químicos se dieron en Estados Unidos (Kerns & Gaylor, 1992; O'Brien et al., 1992), donde se detectó resistencia a organofosforados y piretroides. En la actualidad se utilizan organofosforados (dicrotophos, oxidemeton-metil, clorpirifos, bifentrina, piretroides, cloronicotinilo y cipermetrina), sin embargo, sus usos se consideran contraproducente ya que no disminuyen las poblaciones de áfidos, sino que aumenta su potencial reproductivo (Denholm & Devine, 2013).

3.1.6 Control biológico

En la literatura se considera una fuente sostenible a largo plazo para el manejo de plagas en comparación con los productos químicos. Además, se considera un componente bastante importante para el manejo integrado de plagas (Bale et al., 2008). Los áfidos son controlados con enemigos naturales cuando sus poblaciones son bajas aunque es necesario evaluar distintos factores que influyen en el manejo y control de las plagas con controladores biológicos tales como: las plantas hospederas, tasa de reproducción del áfido y del controlador y las temperaturas (Kersting et al., 1999). Stary (1988) afirma que los enemigos

naturales son un factor clave para el control de los áfidos. Lawo et al (2009), reportó alrededor de 400 especies y 60 géneros de controladores biológicos de áfidos.

3.2 Uso de extractos bótanicos

Los agroquímicos sintéticos han sido la herramienta tradicionalmente utilizada para el control de mosca blanca, áfidos y otras plagas agrícolas en Panamá. Sin embargo, éstos, además de ser económicamente costosos, representan una amenaza a los ecosistemas por su efecto deletéreo en los seres vivos y en la salud humana. Una alternativa al uso de plaguicidas sintéticos es la búsqueda de extractos con actividad insecticida producidos por las plantas silvestres de nuestros bosques tropicales, que puedan ser preparados y aplicados fácilmente por los agricultores. De esta manera se estaría contribuyendo a mejorar la salud de los ecosistemas y los seres humanos que consumirían productos agrícolas más saludables. En los últimos años los esfuerzo para el control de *A. gossypii* a partir de extractos orgánicos es bastante notable en la literatura científica (Birgücü et al., 2015; Santos et al., 2018).

3.3 Importancia del uso de extractos

La agricultura sostenible tiene como objetivo reducir la incidencia de plagas y enfermedades en los campos agrícolas implementando técnicas que impidan a los insectos dañar los cultivos sin alterar el equilibrio de la naturaleza. Esto implica redescubrir y desarrollar estrategias cuyo costo y efectos ecológicos secundarios sean mínimos. El uso de plaguicidas sintéticos sin duda ha resultado en el logro de la revolución verde en diferentes países a través del aumento de la producción. Sin embargo, en los últimos años ha habido una presión considerable por parte de los consumidores y agricultores para reducir o eliminar los

pesticidas sintéticos en la agricultura. Esta preocupación ha animado a los investigadores a buscar mejores alternativas para pesticidas sintéticos. La biodiversidad ofrece tres fuentes fundamentales de inspiración para el científico moderno: productos químicos (desarrollo de fármacos, agroquímica), genes (desarrollo de proteínas farmacéuticas recombinantes, enzimas y biotecnología) y diseños (arquitectura, ingeniería mecánica y tecnología de sensores (Mateo et al., 2001). Millones de años de coevolución entre plantas y herbívoros ha dado como resultado una enorme biblioteca de productos naturales en los bosques tropicales con una amplia gama de sustancias químicas que se pueden considerar promisorias como futuras curas alternativas de enfermedades, biopesticidas, y otros compuestos químicos que se sintetizan a partir de todas las interacciones que ocurren entre los diferentes organismos de nuestros bosques (Mateo et al., 2001). Las plantas producen dos tipos de metabolitos: los primarios (carbohidratos, péptidos, etc), que son compuestos esenciales y se encuentran en todas las especies vegetales y los metabolitos secundarios que son los productos finales de las rutas metabólicas, los cuales no se encuentran en todas las especies vegetales. Lo interesante de estos, es que son en ellos que los científicos han encontrado actividades biológicas en bioensayos contra diferentes organismos (Bernhoft, 2010).

Los biopesticidas extraídos de las plantas y otros organismos jugarán un papel importante en el futuro para el control de plagas tanto en los países industrializados como en los países en desarrollo. Los países ricos en biodiversidad como Panamá deben realizar una bioprospección rápida de su flora para proteger nuestros recursos naturales de la biopiratería y reglamentar el uso justo de los pesticidas botánicos desarrollados a partir de las plantas nativas.

3.4 Descripción de las plantas bajo estudio

Eschweilera jefensis J.E. Bat. & S.A. Mori

3.4.1 Taxonomía

De acuerdo con Huang et al (2015) utilizamos la siguiente clasificación:

Reino ---------- Plantae

Subreino ---------- Tracheobionta

División ---------- Magnoliophyta

Clase ---------- Magnoliopsida

Subclase ---------- Dilleniidae

Orden ---------- Ericales

Familia ---------- Lecythidaceae

Género ---------- *Eschweilera*

Especie ---------- *E. jefensis* J.E. Bat. & S.A. Mori

3.4.2 Morfología

Árboles pequeños (5–15 m de altura) que se encuentran con mayor frecuencia en el sotobosque de bosques nubosos. Tronco de color gris con la corteza fisurada y laminada. Hojas canaliculadas adaxialmente que al secarse se ven negruzcas con bordes enteros y ápice agudo a acuminado. Flores rosadas. Andróforo enrollado hacia el interior y con estaminodios bien desarrollados. Los frutos son globosos a globosos deprimidos con un llamativo anillo de calicina, zona infracalicina marrón oscura. Frutos tienen una estructura en forma de tapa en el extremo apical, la cual se desprende y deja caer las semillas al suelo (Batista et al., 2017).

3.4. 3 Distribución

Es una especie endémica de las partes central y oriental de la provincia de Panamá (Batista et al., 2017).

3.4.4 Metabolitos secundarios

Diferentes especies de *Eschweilera* han sido objeto de diferentes estudios químicos en los que se han reportado triterpenos pentacíclicos en *E. longipes* (Carvalho et al 1998), con una alta actividad insecticida (Estrada 2002). Extractos acuosos, metanólicos y de otros alcoholes de ramas de *E. pedicellata* han mostrado actividad insecticida contra el escarabajo *Sitophilus zeamais* (de Oliveira et al., 2012).

Sphagneticola trilobata **(L.) Pruski**

3.4.6 Taxonomía

La taxonomía utilizada es citada del Missouri Botanical Garden (2008):

Reino ---------- Plantae

Subreino ---------- Tracheobionta

División ---------- Magnoliophyta

Clase ---------- Dicotyledonae

Subclase ---------- Dilleniidae

Orden ---------- Asterales

Familia ---------- Asteraceae

Género ---------- *Sphagneticola*

Especie ---------- *S. trilobata* (L.) Pruski

3.4.7 Morfología

Planta perenne que crece de 45 a 60 mm con tallos de color verde, redondeados, enraizados en los nudos, porciones de flores ascendentes, de ásperamente estrigosas a hirsutas extendidas, a veces subglabras. Hojas carnosas obovadas simples con nervadura arqueada. Con flores amarillas que surgen en las axilas de las hojas a cualquier altura. Frutos de color marrón (Wagner et al., 1999).

3.4.8 Distribución

Es una especie cosmopolita, originaria del neotrópico, posee un historial de introducciones repetidas fuera de su área de distribución natural y se está naturalizando ampliamente en los trópicos (Hear, 2008). En Panamá está distribuida en todo el país (Herbario de la Universidad de Panamá, 2021).

3.4.9 Metabolitos secundarios

En esta planta podemos encontrar terpenoides, flavonoides, poliacetilenos y esteroides (Ton That et al., 2007; Qiang et al., 2011). Las hojas y el tallo contienen lactonas eudesmanolida, luteolina y ácido kaurenoico (Govindappa & Poojashri, 2011). Tiene diferentes clases de fitoconstituyentes tales como sesquiterpenoides, triterpenoides y diterpenoides en las partes aéreas (Huang et al., 2003; That et al., 2007; Qiang et al., 2011). Los wedelolactona presentes poseen actividad hepatoprotectora, antibacteriana, antihemorrágica y antiepiléptica (Murugaian et al 2008). Sus aceites esenciales son valiosos por su compleja composición. La

mayor parte de los componentes del aceite pertenecen al gran grupo de los terpenos (Da Silva et al., 2012).

3.4.10 Antecedentes de actividad insecticida

Pushpalatha et al (2012), encontraron que los extractos de acetona de las hojas de *S. trilobata* reducen eficazmente la fecundidad de los mosquitos *Culex pipiens*. Khater & El-Shafiey (2015), determinaron la actividades insecticidas de extractos de aceites esenciales tales como α-pineno, limoneno, α felandreno y el β felandreno de *S. trilobata*, contra *Tribolium castaneum*. El aceite esencial de la planta (LC50= 6.2%) fue más efectivo que el de *M. officinalis* (LC50 = 16.4%).

Extractos crudos de acetato de etilo y alcanos aislados de *S. trilobata* contienen múltiples actividades biológicas que contribuyen a la toxicidad en lepidópteros tales como disuasivos y toxinas con efecto de contacto contra *Spodoptera litura*, *S. exigua* y *Plutella xylostella* (Junhirun et al., 2018).

***Selaginella horizontalis* (C. Presl) Spring**

3.4.11 Taxonomía

De acuerdo con Somer (1978):

Reino ---------- Plantae

Subreino ---------- Tracheophyta

Clase ---------- Lycopodiopsida

Orden ---------- Selaginellales

Familia ---------- Selaginellaceae

Género ---------- *Selaginella*

Especie ---------- *Selaginella horizontalis* (C. Presl) Spring

3.4.12 Morfología

Es una planta muy abundante en el sotobosque, generalmente a lo largo de los senderos; también se encuentra en lugares sombreados y en claros; con tallos glabros, oscuramente articulados, sin ápices flagelados, con raíces prominentes a lo largo de su longitud que se producen en el lado inferior del tallo. Hojas medianas, acuminadas, auriculadas y fijadas muy por encima de la base. Conos cortos, poco llamativos, solitarios en los ápices de las últimas ramas, cuadrados, brácteas alargadas, extendidas, finamente dentadas; megásporas diminutas, alveoladas, amarillo-marrón claro (Somer, 1978).

3.4.13 Distribución

Esta especie se puede encontrar en Costa Rica, Panamá, Colombia, Venezuela (Herbario de la Universidad de Panamá, 2021).

3.4.14 Metabolitos secundarios

El género *Selaginella* pertenece a la familia Selaginellaceae, que es bien conocida por sus productos naturales únicos con una amplia gama de efectos biológicos. Numerosas especies de *Selaginella* se utilizan en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas

enfermedades: hiperglucemia, inflamación, dismenorrea y hepatitis crónica (Zhang et al., 2017). Este género posee selaginelinas, selaginpulvilinas, biflavonoides, flavonoides, diterpenos, alcaloides, lignanos y neolignanos y saponinas los cuales poseen diferentes actividades biológicas tales como anticancerígenas, antimicrobianas y neuroprotectoras (Kumar et al., 2021).

CAPITULO 4

METODOLOGÍA

4.1 Colecta de las plantas

Para este estudio se seleccionaron tres especies de plantas señaladas con potencial biocida en la literatura; *Eschweilera* sessilis, *Sphagneticola trilobata* y *Selaginella horizontalis*. La colecta del material vegetal se realizó utilizando la información disponible en el Herbario de la Universidad de Panamá sobre la distribución geográfica de las plantas en la República de Panamá. Las tres especies vegetales fueron seleccionadas de acuerdo con la disponibilidad de material botánico y con referencias locales de actividad biocida.

Se realizaron los trámites pertinentes con MiAmbiente, para recolectar las plantas, bajo la supervisión de un botánico, en la provincia de Panamá Este (Figura 1). De cada especie se recolectaron hojas, flores, tallos y raíces los cuales se depositaron en bolsas plásticas para ser transportadas al Laboratorio de Química No 107 de la Vicerrectoría De Investigación y Postgrado donde se prepararon los extractos.

Para la recolección del material vegetal se tuvo el cuidado de elegir los órganos de las plantas libres de enfermedades y picaduras de insectos. El material tipo de las especies vegetales se identificó y depositó en el Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Neotropical de la Vicerrectoría de Investigación y Postgrado de la Universidad de Panamá.

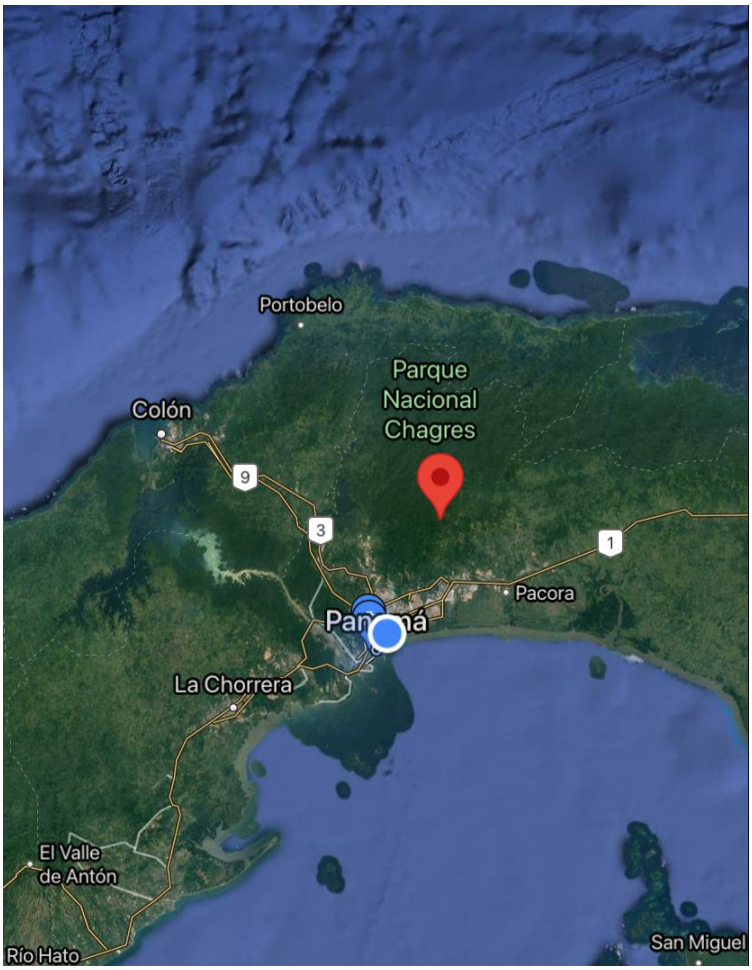

Figura 1. Mapa con las dos localidades donde se colectaron las plantas; punto azul (Parque Natural Metropolitano), punto rojo (Cerro Azul).

4.2 Identificación de las plantas

Se utilizaron los trabajos de Batista et al (2017), para *E. sessili*; para *S. trilobata* Somer (1978); y para *S. horizontalis* el trabajo de Wagner et al (1999). Las identificaciones fueron corroboradas por un botánico.

4.3 Colecta de los insectos

Las colonias de *A. gossypii* fueron mantenidas en el laboratorio a temperatura de 28 ± 4 ºC y humedad relativa de 70 ± 5 %. Otras colonias de respaldo fueron mantenidas al aire libre. Después de intentar mantener colonias en diferentes hospederos como *Lycopersicum esculentum* (tomate), *Vigna sinensis* (frijol) y *Cucumis melo* (melón), finalmente se desarrollaron colonias abundantes y saludables sobre *Catharanthus roseus.* Las plantas fueron mantenidas en cajas colapsables de 61 x 61 x 61 cm, cubiertas con organza, la cual impedirá la salida de los insectos, pero permitía la ventilación interior, al mismo tiempo garantizando su aislamiento para evitar el acceso de otros insectos que pudieran interferir con el normal desarrollo de la colonia tales como parasitoides o depredadores y se tuvo especial cuidado de eliminar cualquier otro factor de mortalidad (virus, hongos, etc.) que interfiriera con el desarrollo de los individuos. Para ello se hicieron pases sucesivos entre plantas hospederas hasta lograr colonias sanas y vigorosas, que se mantenían en condiciones aisladas de vectores de enfermedades en una cámara bioclimática. Las plantas hospederas fueron reemplazadas periódicamente para facilitar el mejoramiento de la colonia.

4.4 Identificación de los insectos

Para la identificación de los áfidos se hicieron micropreparados y se utilizó la clave de áfidos alados y ápteros de Panamá (Quirós, 1988).

4.5 Preparación de extractos etanólicos

Las partes de interés de cada planta se lavaron para eliminar arena, polvo y contaminantes químicos, se secaron a la sombra durante 5-6 días en un lugar limpio y luego se separaron

los tallos de la hojas, para después triturarlas. Se prepararon los extractos de los productos botánicos siguiendo el método de Rezaul Karim et al (1992), para lo cual se pesaron 500 g de material vegetal de cada órgano y especie de planta y se colocaron en frascos a los que se le agregó etanol (99 %) hasta cubrir la muestra vegetal por completo dejándolo macerar durante 48 a 72 h en un lugar fresco y protegido de la luz. Transcurrido este tiempo, se filtró el líquido a través de 4 capas de gasa y se rotaevaporó a 50 °C y 100 rpm hasta la sequedad. Cada residuo obtenido se conservó en un frasco estéril de 20 y 8 mL de color ámbar a una temperatura de 5 °C hasta que se realizaron los bioensayos. Para el bioensayo de extractos etanólicos se tomaron muestras de 10 µL que contenían 100 µg/L, 50 µg/L y 25 µg/L del extracto crudo.

4.6 Bioensayos

Para evitar las dificultades inherentes a los ensayos con insectos vivos se realizaron bioensayos en adultos y ninfas de cuarto estadio siguiendo la técnica de Ahmed et al (2020), con algunas modificaciones. Se utilizaron hojas de *C. roseus* de aproximadamente 5 cm y se sumergieron durante 10 s en los diferentes extractos de concentración variable. Luego, las hojas se colocaron en platos de Petri de 6 cm de diámetro que contenían agar al 2 % para mantenerlas hidratadas y se dejaron a temperatura ambiente durante 24 horas para que se evaporara el solvente del extracto para evitar la muerte de los áfidos por exceso de humedad. Grupos de 10 adultos ápteros o ninfas de cuarto estadio se transfirieron cuidadosamente con un pincel fino a la hoja contenida en el plato Petri teniendo especial cuidado de no causar lesiones a los pulgones durante su transferencia. Para evitar que los áfidos escaparan durante el período de observaciones cada plato se cubrió con muselina atada al plato con una liga

(Figura 2). El control negativo se preparó usando una solución v/v: 9 mL de H_2O destilada y 1 mL de Etanol 99 %. Para el control positivo se utilizó una solución de Imidacloprid® (0.02 mg en 500 mL de H_2O destilada). Todas los platos se mantuvieron en una cámara bioclimática durante 72 h a 28 ± 4 ºC y humedad relativa de 70 ± 5 % y con un fotoperíodo de 12:12 (claro: oscuro). Los registros de mortalidad se llevaron a cabo cada 24 horas hasta las 72 horas después de la aplicación de los extractos. Por cada variante experimental se realizaron tres repeticiones.

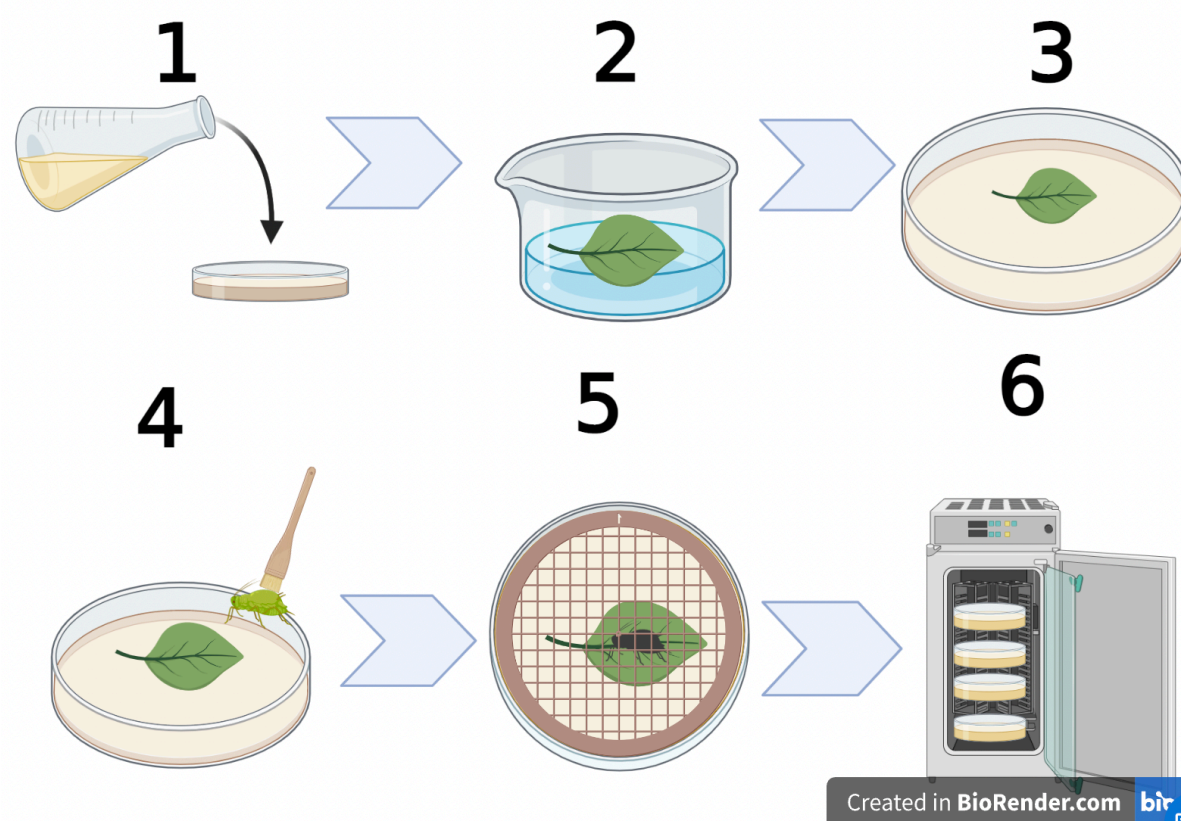

Figura 2. Pasos para la preparación de los bioensayos: (1) Se muestra como se sirvió el Agar-agar en un plato Petri; (2) La hoja usada para el bioensayo fue sumergida en los diferentes extractos; (3) Se colocó la hoja en el medio; (4) Se colocaron 10 individuos sobre la hoja con la ayuda de un pincel fino; (5) Después de colocarlos se coloca un malla con una liga, para

evitar que se escapen y a su vez, que tengan ventilación; (6) Se colocan las muestras y sus tres replicas a una cámara bioclimática en condiciones controladas.

4.7 Análisis estadístico

Los resultados de los bioensayos se reportaron como porcentaje de mortalidad. Para el análisis estadístico se comprobaron los supuestos de normalidad y los datos se analizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos con el programa Prism GraphPad v5 y Past. Se calculó LC_{50} para todos los extractos de plantas usando el programa AAT Bioquest en línea.

CAPITULO 5

RESULTADOS

Después de observar la mortalidad cada 24 horas se encontró que a las 72 h algunos de los extractos evaluados causaron valores de mortalidades superiores y diferentes, estadísticamente, de la obtenida con los controles positivos y negativos (Figura 1). Los extractos provenientes de las hojas de *E. jefensis* y de *S. horizontales* causaron una mortalidad mayor al 80 % a partir de las 48 horas, llegándose a alcanzar una mortalidad mayor al 90 % en los extractos con dosis de 50 ug/L y 100 ug/L ($P \leq 0.05$) (Figura 3; Tabla 2). En la Tabla 1 se muestran los promedios de mortalidad acumulada de los áfidos en función del tiempo de evaluación.

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad de *Aphis gossypii* y el error estándar a las 24, 48 y 72 horas después de la aplicación de los extractos etanólicos de las plantas evaluadas.

			Mortalidad promedio +- SE		
			Horas despues de la aplicación		
Especie	Dosis	Parte botánica	24H	48H	72H
Eschweilera jefensis	25	Tallo	60 ±17.3	73.3±12.0	73.3±12
	50	Tallo	46.7±24.1	50±20.8	53±23.4
	100	Tallo	36.7±3.3	50±15.3	66.7±18.6
	25	Hoja	23.3±12	33.3±16.7	33.3±16.7
	50	Hoja	70±15.3	90±5.8	96.7±3.3
	100	Hoja	93.3±6.7	93.3±6.8	100±0
Sphagneticola trilobata	25	Hoja	48.1±3.7	55±0	66.7±6.4
	50	Hoja	66.6±11.2	66.6±11.3	70.4±9.82
	100	Hoja	55.5±6.4	59.2±9.8	70.4±13.4
	25	Tallo	11.1±11.1	14.8±14.8	14.8±14.9
	50	Tallo	7.4±7.4	22.2±17	29.6±19.6
	100	Tallo	59.3±7.4	88.9±6.4	92.6±7.4
Selaginella horizontalis	25	Hoja	12.5±7.2	37.5±7.2	41.7±11
	50	Hoja	33.3±11	58.3±8.3	62.5±7.2
	100	Hoja	41.7±18.2	79.2±15	83.3±16.7

El efecto insecticida para alguno de los extractos aplicados se manifestó desde las 24 h; A este tiempo, el porcentaje mayor se observó para las hojas de *E. jefensis* (93 %), el resto de los extractos mostró efectividad de 60 % o menos sobre los áfidos. De modo general, no se evidenció una tendencia al aumento de la mortalidad en el tiempo para cada extracto, siendo la concentración, órgano y especie de planta los factores responsables de la mortalidad (Figura 3). En el caso del extracto de hojas de *E.jefensis*50 y 100 ug/L la mortalidad varió abruptamente hasta alcanzar más del 90 % a las 72 horas.

Tabla 2. Estadística descriptiva. Supervivencia (# de individuos) bajo diferentes extractos considerando el órgano de origen. Se muestran los valores de mediana y rango intercuartil (IQR). EJT: *E. jefensis* (Tallo); EJH: *E. jefensis* (Hoja); STH: *Sphagneticola trilobata*

(Hoja); STT: *Sphagneticola trilobata* (Tallo); SHH: *Selaginella horizontalis*; Positivo: control con imidacloprid; EtOH: control de solvente y agua (negativo).

	EJT	EJH	STH	STT	SHH	POSITIVO	EOH
Median	**4.0**	**1.0**	**4.0**	**8.0**	**5.0**	**2.0**	**9.0**
IQR (25%-75%)	**2 to 9**	**0 to 2**	**1 to 4**	**4 to 10**	**4 to 7**	**2 to 2**	**8 to 10**
Mean	5.000	1.000	3.000	7.333	5.333	2.000	9.000
95% CI of mean	(-3.957 to 13.96)	(-1.484 to 3.484)	(-1.303 to 7.303)	(-0.2558 to 14.92)	(1.539 to 9.128)	(2 to 2)	(6.516 to 11.48)
Std. Deviation	3.606	1	1.732	3.055	1.528	0	1
Std. Error	2.082	0.5774	1	1.764	0.8819	0	0.5774
Coefficient of va	72.11%	100.00%	57.74%	41.66%	28.64%	0.00%	11.11%

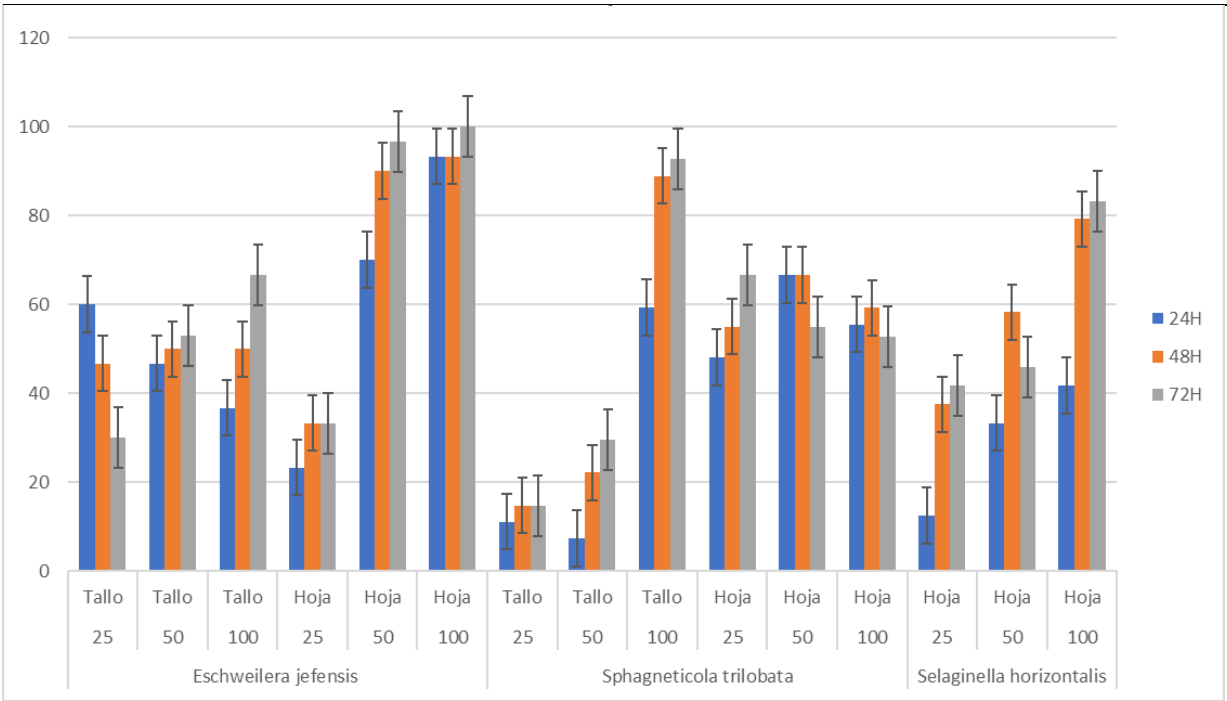

Figura 3. Porcentaje de mortalidad por especie de planta y por órgano analizado (tallo, hoja) a las 24, 48 y 72 horas de aplicado el extracto a las hojas.

Se utilizó una concentración y hora intermedia para analizar la mortalidad de las diferentes especies/órganos comparando los resultados con la dosis de 50 ug/L a las 48 h ya que a 25

ug/L y 24 h existe muy poca mortalidad (Figura 3). Sin embargo, con 100 ug/L a las 72 h la mortalidad es considerablemente alta. Mediante la prueba de Kruskal-Wallis se demostró que realmente existen diferencias entre las medianas de los grupos (p = 0.02378) (Tabla 3) y a simple vista se puede observar que el extracto de las hojas de *E. jefensis* (EJH) mostró mayor toxicidad (Figura 3).

Tabla 3. Prueba Kruskal-Wallis.

Kruskal-Wallis test for equal medians

H (chi2):	14.16
Hc (tie corrected):	14.58
p (same):	0.02378

Existe diferencias significativas entre las diferentes muestras

Tabla 4. Prueba de Dunns para comparación por grupos.

	EJT	EJH	STH	STT	SHH	POSITIVO	EOH
EJT	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns
EJH		***	ns	0.010	0.042	ns	0.002
STH			***	ns	ns	ns	0.039
STT				***	ns	0.045	ns
SHH50					***	ns	ns
POSITIVO						***	0.012
EOH							***

Con la prueba de Dunns, para la comparación de las muestras, se encontró que existen diferencias entre la mortalidad causada por el extracto de las hojas de *E. jefensis* (EJH) y el extracto de *S. trilobata* proveniente de los tallos (STT) (p = 0.010), entre el extracto de las

hojas de *E. jefensis* y el extracto de hojas de *S. trilobata* (EJH) y el extracto de las hojas de *S. horizontalis* (SHH) (p = 0.042), entre el extracto de hojas de *E. jefensis* (EJH) y el control negativo (EOH) p = 0.002); entre el extracto de hojas de *S. trilobata* (STH) y el control negativo (EOH) p = 0.039) y entre el extracto de tallos de *S. trilobata* (STT) y el control positivo (p = 0.045) (Tabla 4; Figura 4).

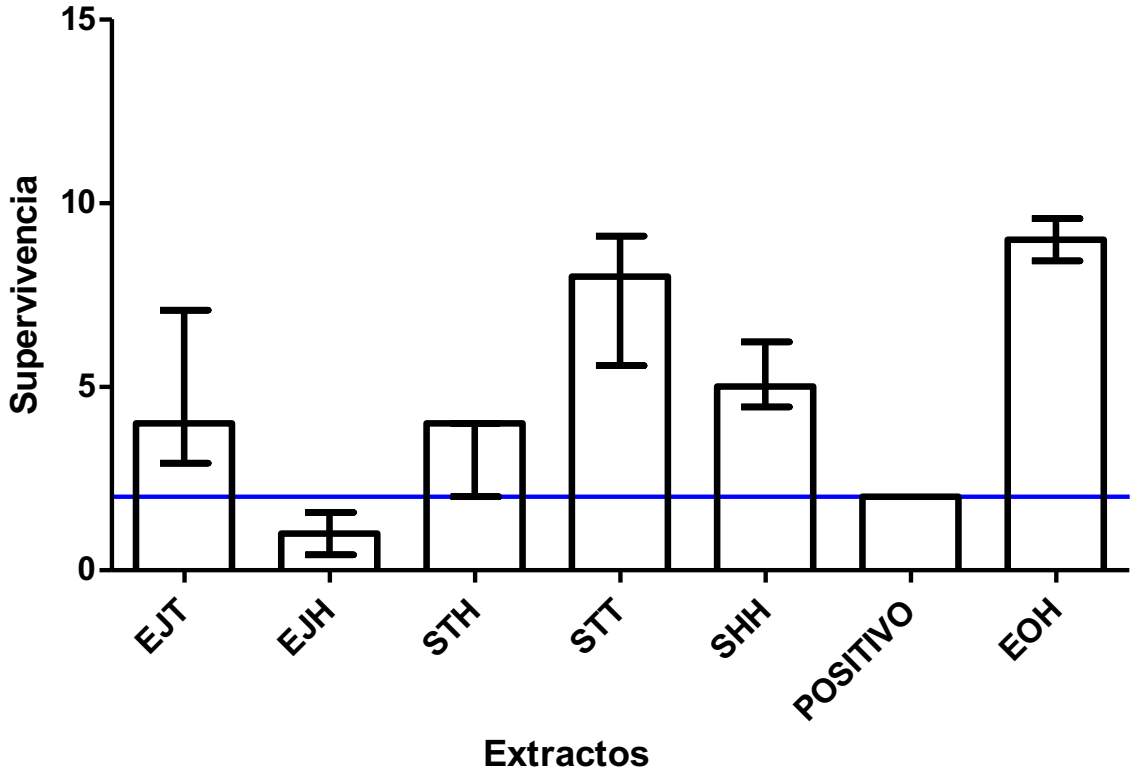

Figura 4. Comparación de Supervivencia (# de individuos) bajo diferentes extractos considerando el órgano de origen. Las barras muestran las medianas y error estándar de cada grupo analizado. La prueba de Kruskal-Wallis determinó diferencias entre los grupos (p = 0.02378) y la prueba de Dunns para comparación por grupos establece diferencias entre EJH

y STT (p = 0.010), EJH y SHH (p = 0.042), EJH y EOH (p = 0.002); por otro lado, STH y EOH p = 0.039), STT y el control positivo (p = 0.045).

Cuando se comparó el número de individuos que sobrevivieron en los diferentes extractos (Figura 3) considerando especie y órgano del cual se obtuvieron, se observa que la supervivencia fue mejor en los extractos de tallos de *S. trilobata*. En la Figura 4 se muestran las medianas y error estándar de cada grupo analizado. Este resultado se ve reflejado en el valor de LC_{50} que se obtuvo para los extractos de tallo de *S. trilobata*, el cual fue relativamente alto lo que significa que es menos tóxico que los demás extractos lo cual puede ser constatado mediante la prueba de Fisher (Figura 5) donde la mortalidad más baja se obtuvo con el extracto de tallo de *S trilobata*.

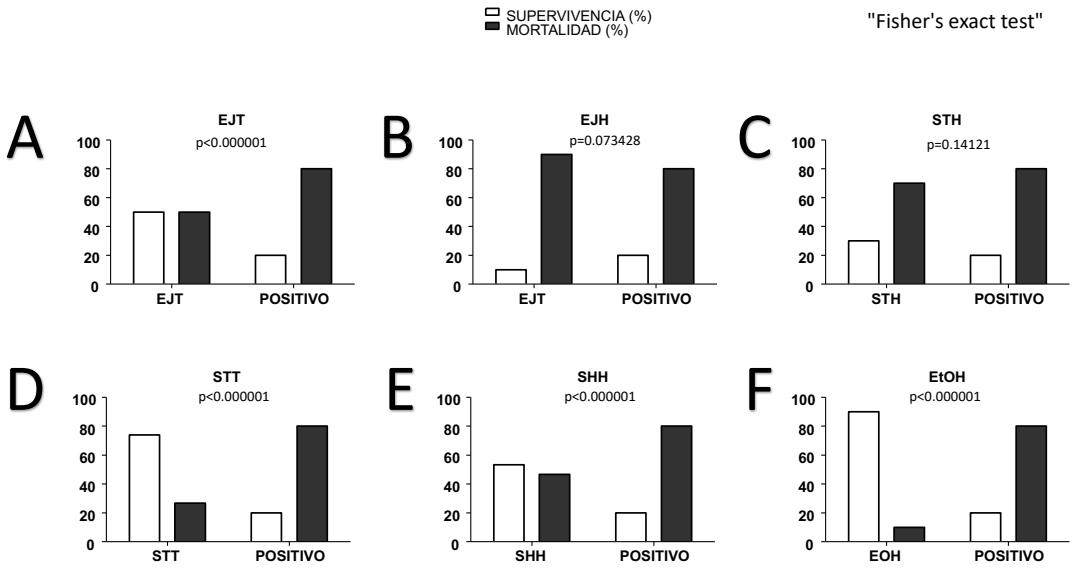

Figura 5. Prueba de Fisher para comparar la superbvivencia y la mortalidad de los áfidos ante los diferentes extractos contrastado con el control positivo (Imidacloprid) y el control negativo. (A) EJT: *E. jefensis* (Tallo); (B) EJH: *E. jefensis* (Hoja); (C) STH: *Sphagneticola trilobata* (Hoja); (D) STT: *Sphagneticola trilobata* (Tallo); (E) SHH: *Selaginella horizontalis*; (F) EtOH: control de solvente y agua (negativo).

La concentración letal 50 % o LC_{50} o concentración de la sustancia que mató a la mitad de los áfidos analizados se presenta en la (Tabla 5). Este valor es una indicación de la toxicidad de la sustancia. El LC_{50} es inversamente proporcional a la toxicidad. Una sustancia con un LC_{50} más bajo es más tóxica que una que tiene un LC_{50} más alto. Por lo tanto, en nuestros resultados

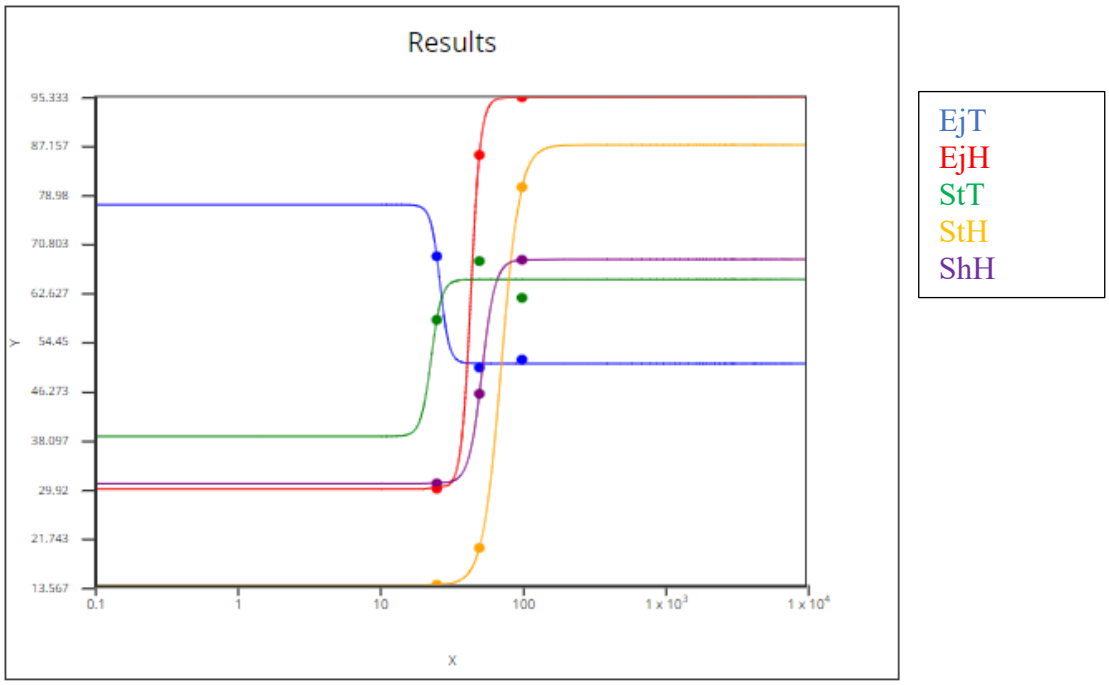

Figura 6. Curvas de LC_{50} de las diferentes especies vegetales.

Tabla 5. Comparación de cada órgano vegetal, especie, dosis y LC_{50}.

Familia botánica	Especie	Órgano vegetal	Dosis	LC_{50}
Lecythidaceae	*E. jefensis*	Tallo	25, 50 y 100 ug/L	44.5
	E. jefensis	Hoja	25. 50 y 100 ug/L	43.6
Asteraceae	*S. trilobata*	Tallo	25. 50 y 100 ug/L	71.4
	S. trilobata	Hoja	25. 50 y 100 ug/L	24.1
Selaginellaceae	*S. horizontalis*	Hoja	25. 50 y 100 ug/L	52.1

Los valores de LC_{50} de los extractos ensayados se presentan en la Tabla 5. Se encontró que el tallo de *S. trilobata,* con el mayor LC_{50}, presentó la menor mortalidad. Las hojas y tallos de *E. jefensis* presentaron valores de LC_{50} similares a pesar de que las hojas causaron mayor mortalidad. El extracto de hojas de *S. horizontalis* presentó un valor de LC_{50} un poco mayor que *E. jefensis* lo cual indica que es menos tóxico a los áfidos.

CAPITULO 6

DISCUSIÓN

Hasta el momento no existen reportes de bioensayos con extractos de *E. jefensis, S. trilobata* y *S. horizontalis* contra *A. gossypii*. Sin embargo, se ha reportado una alta capacidad insecticida de extractos acuosos, metanólicos y de otros alcoholes de otra especie de *Eschweilera* sobre diversas especies de insectos (Estrada, 2002). La alta efectividad de este género de plantas quedó evidenciada cuando se evaluaron extractos de ramas de *E. pedicellata* contra el escarabajo *Sitophilus zeamais* por contacto (de Oliveira et al., 2012). Esta alta actividad insecticida sobre insectos con exoesqueleto muy fuerte y resistente que los debiera proteger contra el efecto de residuos tóxicos en las hojas de las plantas sobre las que se alimentan es un indicio de la capacidad biocida de *E. jefensis*. La acción insecticida sobre adultos de *A. gossypii* del extracto etanólico estudiado amplía las posibilidades de aplicación de *E. jefensis* en el manejo de diferentes estados de este insecto fitosuctívoro, difícil de controlar debido a su forma de alimentación a partir de la savia de la planta en el envés de las hojas.

Se encontró que extractos acuosos de una especie de *Eschweillera* (*E. pedicellata*) mostraron actividad repelente después de 24 horas a una concentración de 50 mg/mL. En este estudio no se puede asumir que la mortalidad de *A. gossypii* haya sido causada por sustancias volátiles en el extracto ya que se trataba de extractos etanólicos. Este estudio hace una contribución importante al conocimiento sobre extractos de esta planta de lo cual se conoce

muy poco en contraste con el conocimiento que se tiene sobre el efecto de los aceites esenciales (Akob & Ewete, 2009; de Oliveira., 2012).

Por otro lado, son conocidas las propiedades inhibitorias de *S. trilobata* L. contra caracoles plaga (Rezende et al., 2000) y su actividad insecticida y antialimentaria contra el gorgojo del algodón (Howard et al., 1990). Varios extractos con diferentes solventes de *S. trilobata*, especialmente acetato de etilo fue eficaz como disuasivo de la alimentación y también mostró toxicidad por contacto contra tres especies evaluadas de larvas de Lepidoptera. El extracto de acetato de etilo estaba compuesto por varios alcanos, la cual era la fracción que poseía tanto efecto toxico por contacto como disuasivo. El nonacosano mostró la actividad antialimentaria más alta en comparación con otros compuestos alcanos contra las tres especies de Lepidoptera en estado larvario. Sin embargo, el efecto aditivo o sinérgico entre las fracciones de alcanos pudieron ser más eficaces como disuasivos alimenticios o toxinas. El extracto de esta planta puede haber incrementado la mortalidad de los áfidos actuando como tóxico, repelente o disuasivo de la alimentación de *A. gossypii.*

Estudios fitoquímicos previos sobre los constituyentes del género *Selaginella* condujo al descubrimiento de muchos compuestos, incluidos los biflavonoides, el principal metabolito secundario de *Selaginella* (Lin et al., 2000; Sun et al., 2006). Las plantas usan biflavonoides ecológicamente para responder a ciertas condiciones ambientales tales como defensa contra plagas, enfermedades, herbivoría y competencias (Setyawan, 2011). Adicionalmente estos compuestos actúan como antioxidantes, anticancerígenos y antiinflamatorios (Lin et al., 2000).

La bioactividad de estos biflavonoides requiere ser estudiada en las especies que componen la Familia Selaguinellaceae porque hoy en día sólo se ha estudiado la bioactividad de amentoflavona y ginkgetin. (Fan et al., 2007; Setyawan, 2011). Es importante ampliar la investigación sobre la bioactividad de otros compuestos no biflavonoides, que también tienen un alto valor económico potencial como la trehalosa provenientes de *Selaginella* (Setyawan, 2011).

Los áfidos y otros grupos de insectos fitosuctívoros como diferentes especies de mosca blanca han sido plagas muy severas sobre cultivos de importancia económica debido a su resistencia a los plaguicidas de contacto y al hecho que estos se alimentan en el envés de las hojas donde son difíciles de alcanzar con los métodos comunes de aspersión. Los resultados del presente estudio indican que las tres especies de plantas probadas tienen efectos tóxicos prometedores contra los adultos y ninfa de cuarto estadio de *A. gossypii* en condiciones de laboratorio. El extracto de las hojas de *E. jefensis* y de *S. horizontalis* así como el extracto del tallo de *S. trilobata* muestran una toxicidad prometedora al aplicar la dosis más alta de 100 µg/L (Tabla 1).

Aplicando el análisis probit a los datos se puede determinar la fuerza de la relación entre concentración y mortalidad, así como determinar la concentración adecuada del extracto si se desea asegurar la mortalidad de, por ejemplo, el 95 % de los áfidos expuestos.

Las plantas son una rica fuente de compuestos bioactivos y los estudios de actividad biológica a nivel de laboratorio constituyen la base de la identificación de los candidatos más promisorios para el desarrollo de agentes ambientalmente amigables, destinados al manejo de plagas. Consideramos que extractos de las hojas de *E jefensis* y *S, trilobata* poseen una alta actividad insecticida sobre adultos de *A. gossypii* en cada una de las concentraciones aplicadas y tiempos evaluados, lo que indica su potencial como alternativa en el manejo de esta plaga, principalmente en cultivos orgánicos. Estudios para evaluar diferencias en composición química entre órganos de una planta mostraron compuestos activos y actividades más dominantes en las hojas en comparación con los extractos de tallos y flores (Ketsuwan et al., 2017). Por otro lado, estudios sobre la variación cuantitativa de flavonoides y diterpenos entre hojas jóvenes, hojas maduras y tallos de algunas plantas demuestran que el tipo de órgano y su estado de desarrollo son factores determinantes para cuantificar estos compuestos, siendo las hojas jóvenes los órganos que muestran mayor cantidad, seguidas de los tallos. Además, la cantidad de compuestos derivados del metabolismo secundario depende de la temporada, siendo la estación seca el período en el que la secreción es significativamente mayor. Sin embargo, la cantidad de metabolitos secundarios en hojas jóvenes es mayor que en hojas maduras y tallos a lo largo del año (Valares et al., 2016).

Estudios posteriores permitirán demostrar la efectividad en campo de insecticidas botánicos basados en estos extractos. Aunque no contamos con información sobre los factores causantes de las diferencias entre las plantas estudiadas aquí, es importante señalar que uno de los factores más importantes responsables de las diferencias en toxicidad de los extractos botánicos es la herbivoría a la que se ha visto sometida la planta aunque otros factores

ambientales también pueden influir. Estudios recientes sobre el cambio en los perfiles de expresión génica después de la herbivoría en plantas ha mostrado una reasignación sustancial de los recursos vegetales a la defensa la cual a su vez depende del tipo de herbívoro atacando a la planta. Algunos insectos provocan cambios en la expresión de genes involucrados en el metabolismo de glucosinolatos, desintoxicación, supervivencia celular y transducción de señales mientras que los áfidos regulan la expresión de genes involucrados en modificaciones de la pared celular, estrés oxidativo, señalizaciones calcio-dependientes y síntesis de glucosinolatos (War et al., 2012). Los diferentes atacantes enfrentan diferentes respuestas en las plantas según el comportamiento de alimentación y la planta atacada. Diferentes plantas responden de manera diferente al mismo herbívoro. La combinación de diversas tecnologías, como herramientas genéticas y genómicas mejorará nuestra comprensión de los mecanismos moleculares de defensa de las plantas contra insectos herbívoros (War et al., 2012) y nos permitirá hacer un uso más racional de los metabolitos secundarios producidos por las plantas.

RECOMENDACIONES

- Realizar estos bioensayos nuevamente incrementando el número de concentraciones para determinar con más precisión la dosis más conveniente para utilizar en bioensayos de campo.
- Considerar el uso de extractos a base de estas plantas para el control de áfidos en los cultivos como una alternativa al uso indiscriminado de plaguicidas de origen químico.
- Determinar si estos extractos también tienen efecto en el control de otras plagas hortícolas.
- Realizar trabajos de investigación para observar si estos extractos tienen efectos secundarios en insectos benéficos para los cultivos.
- Investigar si existe efecto sinérgico y aumenta la eficiencia mezclando extractos de dos o tres de estas plantas.

LITERATURA CITADA

Abate, T., van Huis, A., & Ampofo, J. K. O. (2000). Pest management strategies in traditional agriculture: an African perspective. *Annual review of entomology*, 45(1), 631-659.

Ahmed, M., Peiwen, Q., Gu, Z., Liu, Y., Sikandar, A., Hussain, D., ... & Ji, M. (2020). Insecticidal activity and biochemical composition of Citrullus colocynthis, Cannabis indica and Artemisia argyi extracts against cabbage aphid (Brevicoryne brassicae L.). *Scientific reports*, *10*(1), 1-10.

Akob, C. A., & Ewete, F. K. (2009). Laboratory evaluation of bioactivity of ethanolic extracts of plants used for protection of stored maize against Sitophilus zeamais Motschulsky in Cameroon. *African Entomology*, *17*(1), 90-94.

Amoabeng, B. W., Gurr, G. M., Gitau, C. W., & Stevenson, P. C. (2014). Cost: benefit analysis of botanical insecticide use in cabbage: Implications for smallholder farmers in developing countries. *Crop Protection*, *57*, 71-76.

Bale, J. S., Van Lenteren, J. C., & Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *363*(1492), 761-776.

Batista, G. J. E., Mori, S. A., & Harrison, J. S. (2017). New species of Eschweilera and a first record of Cariniana (Lecythidaceae) from Panama. *Phytoneuron*, *2017* (62), 1–16.

Bernhoft, A. (2010). A brief review on bioactive compounds in plants. *Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals*, *50*, 11-17.

Birgücü, A. K., Satar, S., & Karaca, İ. (2015). Effects of some plant extracts on *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) and Bemisia tabaci (Gennadius) Takahashi (Hemiptera: Aleyrodidae). *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, *3*(2).

Capital Financiero Panamá. 2021. Agroexportaciones panameñas generaron ingresos por más de $100 millones. https://elcapitalfinanciero.com/agroexportaciones-panamenas-generaron-ingresos-por-mas-de-100-millones/

Carvalho, M. G. D., Rincón Velandia, J., Oliveira, L. F. D., & Bezerra, F. B. (1998). Triterpenos isolados de *Eschweilera longipes* miers (Lecythidaceae). *Química Nova*, *21*, 740-743.

Castillo, L., González-Coloma, A., González, A., Díaz, M., Santos, E., Alonso-Paz, E., ... & Rossini, C. (2009). Screening of Uruguayan plants for deterrent activity against insects. *Industrial Crops and Products*, *29*(1), 235-240.

Da Silva, C. J. D., Barbosa, L. C., Demuner, A. J., Montanari, R. M., Francino, D., Meira, R. M., & Souza, A. O. D. (2012). Chemical composition and histochemistry of Sphagneticola trilobata essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *22*, 482-489.

De Oliveira, T. A., Ronchi-Teles, B., da Fonseca, C. R., da Silva, S. L., Santos, P. A., & Nunez, C. V. (2012). Insecticidal activity of Vitex cymosa (Lamiaceae) and Eschweilera pedicellata (Lecythidaceae) extracts against Sitophilus zeamais adults (Curculionidae). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 49-56.

Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic & medicinal chemistry*, *17*(12), 4022-4034.

Denholm, I., & Devine, G. J. (2013). Insecticide resistance. *Encyclopedia of biodiversity*.

Domínguez, E., Quiros, D. I., & Emmen, D. (2004). Efecto de la temperatura sobre el ciclo de vida de *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae). *Tecnociencia*, *6*(1), 61-69.

Dougoud, J., Cock, M. J., Edgington, S., & Kuhlmann, U. (2018). A baseline study using Plantwise information to assess the contribution of extension services to the uptake of augmentative biological control in selected low-to lower-middle-income countries. *BioControl*, *63*(1), 117-132.

Ebert, T. A., & Cartwright, B. (1997). Biology and ecology of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: aphididae). *Southwestern Entomologist*, *22*(1), 116-153.

Estrada Ortiz, J. (2002). Potencialidades del uso del NIM sus bioproductos en la producción agropecuaria ecológica y sostenible. *Agrcultura Orgánica (Cuba)*.

Fan, X. L., Wan, D. R., Ye, C. J., & Chen, K. L. (2007). Study on HPLC fingerprint characteristics of Selaginella plants. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, *32*(20), 2102-2106.

FAO. (2013). *Statistical yearbook of the Food and Agricultural Organization of the United Nation*s. Food and Agriculture Organization of the United Nations

Farrar, J. J., Baur, M. E., & Elliott, S. F. (2016). Measuring IPM impacts in California and Arizona. *Journal of integrated pest management*, *7*(1).

Fuertes, E. (1978). Determinación de infestación y ciclo biológico del áfido del melón: *Aphis gossypii.* Trabajo de graduación. Facultad de Agronomía. Universidad de Panamá.

Govindappa, M., & Poojashri, M. N. (2011). Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity of ethanol extract and active phytochemical screening of Wedelia trilobata (L.) Hitchc. *Journal of pharmacognosy and phytotherapy*, *3*(3), 43-51.

Godfrey, L. D., Fuson, K. J., Wood, J. P., & Wright, S. D. (1997). Physiological and yield responses of cotton to mid-season cotton aphid infestations in California. In *Beltwide Cotton Conferences (USA)*.

Grzywacz, D., Stevenson, P. C., Mushobozi, W. L., Belmain, S., & Wilson, K. (2014). The use of indigenous ecological resources for pest control in Africa. *Food Security*, *6*(1), 71-86.

Howard Miles, D., Chittawong, V., Payne, A.M. (1990). Cotton boll weevil antifeedant activity and antifungal activity (Rhizoctonia solani and Pythium ultimum) of extracts of the stems of Wedelia biflora. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 38, 1591–1594

HEAR. (2008). *Alien species in Hawaii*. Hawaii Ecosystems at Risk. Honolulu, USA: University of Hawaii. http://www.hear.org/AlienSpeciesInHawaii/index.html

Herbario de la Universidad de Panamá. (2021). *S. trilobata (L.) Pruski*. [online] Available at: http://herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/view/species/737

Hilje Quirós, L. (2001). Avances hacia el manejo sostenible del complejo mosca blanca-geminivirus en tomate, en Costa Rica.

Huang, Y. Y., Mori, S. A., & Kelly, L. M. (2015). Toward a phylogenetic-based generic classification of neotropical lecythidaceae—I. Status of Bertholletia, Corythophora, Eschweilera and Lecythis. *Phytotaxa*, *203*(2), 85-121.

Jones, D. R. (2003). Plant viruses transmitted by whiteflies. *European journal of plant pathology*, *109*(3), 195-219.

Junhirun, P., Pluempanupat, W., Yooboon, T., Ruttanaphan, T., Koul, O., & Bullangpoti, V. (2018). The study of isolated alkane compounds and crude extracts from Sphagneticola trilobata (Asterales: Asteraceae) as a candidate botanical insecticide for lepidopteran larvae. *Journal of Economic Entomology*, *111*(6), 2699-2705.

Kaur, R. A. J. B. I. R., & Arora, S. A. R. O. J. (2015). Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *Journal of Critical Reviews*, *2*(3), 1-8.

Kerns, D. L., & Gaylor, M. J. (1992). Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, *85*(1), 1-8.

Kersting, U., Satar, S. E. R. D. A. R., & Uygun, N. (1999). Effect of temperature on development rate and fecundity of apterous Aphis gossypii Glover (Hom., Aphididae) reared on Gossypium hirsutum L. *Journal of Applied Entomology*, *123*(1), 23-27.

Ketsuwan, N., Leelarungrayub, J., Kothan, S., & Singhatong, S. (2017). Antioxidant compounds and activities of the stem, flower, and leaf extracts of the anti-smoking Thai medicinal plant: Vernonia cinerea Less. Drug design, development and therapy, 11, 383.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific world journal*, *2013*.

Kumar, R., Viktorova, J., Krizkovska, B., Lipov, J., & Ruml, T. (2021). Structural diversity and biological activities of secondary metabolites isolated from the genus Selaginella. *Phytochemistry Reviews*, 1-35.

Lawo, N. C., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2009). Indian Bt cotton varieties do not affect the performance of cotton aphids. *PLoS One*, *4*(3), e4804.

Lin, L. C., Kuo, Y. C., & Chou, C. J. (2000). Cytotoxic biflavonoids from Selaginella delicatula. *Journal of Natural Products*, *63*(5), 627-630.

Lingappa, S., Basavanagoud, K., Kulkarni, K. A., Patil, R. S., & Kambrekar, D. N. (2004). Threat to vegetable production by diamondback moth and its management strategies. In *Fruit and vegetable diseases* (pp. 357-396). Springer, Dordrecht.

Mateo, N., Nader, W., & Tamayo, G. (2001). Bioprospecting. *Encyclopedia of biodiversity*, 1, 471-488.

Missouri Botanical Garden. (2008). *Tropicos database*. St Louis, USA: Missouri Botanical Garden. http://www.tropicos.org/

Murugaian, P., Ramamurthy, V., & Karmegam, N. (2008). Hepatoprotective activity of Wedelia calendulacea L. against acute hepatotoxicity in rats. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *4*(6), 685-687.

O'brien, P. J., Abdel-Aal, Y. A., Ottea, J. A., & Graves, J. B. (1992). Relationship of insecticide resistance to carboxylesterases in Aphis gossypii (Homoptera: Aphididae) from midsouth cotton. *Journal of Economic Entomology*, *85*(3), 651-657.

Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, *144*(1), 31-43.

Qiang, Y., Du, D. L., Chen, Y. J., & Gao, K. (2011). ent-Kaurane Diterpenes and Further Constituents from Wedelia trilobata. *Helvetica Chimica Acta*, 94(5), 817-823.

Pedigo, L. P. (1996). *Entomology and pest management* (No. Ed. 2). Prentice-Hall Inc..

Pushpalatha, E., Aiswarya, D., Sharihan, E. K., & Priya, B. K. P. (2012). Reproductive Toxicity of Anamirta cocculus (L.) Wight and Arn and Sphagneticola trilobata (L.) Pruski Extracts on Culex pipiens Linn. (Diptera: Culicidae). In *Prospects in Bioscience: Addressing the Issues* (pp. 389-392). Springer, India.

Quirós, D. I. (1988). Áfidos:(Homoptera: Aphididae) de Panamá (Tesis de Maestría, Universidad de Panamá. Vicerrectoría de Investigación y Postgrado).

Quiros, D. I., Emmen, D. A., Dominguez, E., Heller, M. V., Coley, P. D., & Kursar, T. A. (2006). A rapid, efficient method for the bioassay of extracts, fractions and compounds for activity against tropical aphids. *International journal of pest management*, 52(4), 333-342.

Quirós, D. I., Remaudière, G., & Nieto Nafría, J. M. (2009). Contribución al conocimiento de Aphididae y Phylloxeridae (Hemiptera: Sternorrhyncha) de Panamá. *Neotropical Entomology*, *38*, 791-800.

Rivera, C., W. Villalobos., M.V. Sánchez., C. Zumbado & C.M. Rodríguez. 1993. Identification and distribution of melon-infecting virus and their vectors in two provinces of Costa Rica. Turrialba 43: 210-215.

Razmjou, J., Vorburger, C., Moharramipour, S., Mirhoseini, S. Z., & Fathipour, Y. (2010). Host-associated differentiation and evidence for sexual reproduction in Iranian populations of the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *134*(2), 191-199.

Rezaul Karim, A. N. M., & Chowdhury, M. M. A. (1992). Mozaddedul Hoque. 1992. Current research on neem in rice in Bangladesh. In Asian Development Bank (1992) *Botanical pest control project phase. Being proceeding of the IRRI ADB final workshop on botanical pest control.*

Rezende, G. S. P., & Souza Jr, C. L. (2000). A reciprocal recurrent selection procedure outlined to integrate hybrid breeding programs in maize. *Journal of Genetics & Breeding*, *54*(1), 57-66.

Sánchez, M. V., Agüero, R., & Rivera, C. (2001). Plantas hospederas de Aphis gossypii (Aphididae), vector de virus del melón Cucumis melo (Cucurbitaceae) en Costa Rica. Revista de biología tropical, 49(1), 305-311.

Santos, L. D., Trindade, R. C. P., Santos, D. S. D., Dias, M. D. S., Broglio, S. M. F., & Lemos, E. E. P. D. (2018). Effect of anonaceous extracts on *Aphis gossypii* (Glover, 1887) (Hemiptera: Aphididae) and selectivity to Eriopis connexa (Germar, 1824)(Coleoptera: Coccinellidae). *Acta Scientiarum. Agronomy*, 40.

Setyawan, A. D. (2011). Natural products from genus *Selaginella* (Selaginellaceae). *Nusantara Bioscience*, *3*(1).

Shaw, A. J. (1999). Cotton Pest Management Guide 99/00 (Agdex 151/68). *NSW Agriculture, Orange*.

Starý, P., Lyon, J. P., & Leclant, F. (1988). Biocontrol of aphids by the introduced Lysiphlebus testaceipes (Cress.)(Hym., Aphidiidae) in Mediterranean France. *Journal of Applied Entomology*, *105*(1-5), 74-87.

Singh, B., & Sharma, R. A. (2015). Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. *3 Biotech*, *5*(2), 129-151.

Somers JR, P. A. U. L. (1978). *A SYSTEMATIC SURVEY OF THE ARTICULATAE SERIES OF THE GENUS SELAGINELLA AND MONOGRAPHIC TREATMENT OF THE S. SULCATA GROUP (SENSU STR.)*. The University of Tennessee.

Sun, D. M., Luo, W. H., & Li, Z. Y. (2006). Determination of amentoflavone in 11 species of Selaginella medicinal material by HPLC. *Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials*, *29*(1), 26-28.

Ton That, Q., Jossang, J., Jossang, A., Nguyen Kim, P. P., & Jaureguiberry, G. (2007). Wedelolides A and B: novel sesquiterpene δ-lactones,(9 R)-eudesman-9, 12-olides, from Wedelia trilobata. *The Journal of organic chemistry*, *72*(19), 7102-7105.

Valares Masa, C., Sosa Díaz, T., Alías Gallego, J. C., & Chaves Lobón, N. (2016). Quantitative variation of flavonoids and diterpenes in leaves and stems of Cistus ladanifer L. at different ages. *Molecules*, *21*(3), 275.

Vasileiadis, V. P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Kudsk, P., Colnenne-David, C., Leprince, F., Holb, I. J., & Sattin, M. (2017). Sustainability of European winter wheat-and maize-based cropping systems: Economic, environmental and social ex-post assessment of conventional and IPM-based systems. *Crop protection*, *97*, 60-69.

Voegtlin, D. J., Halbert, S. E., & Qiao, G. (2004). A guide to separating *Aphis glycines* Matsumura and morphologically similar species that share its hosts. *Annals of the Entomological Society of America*, *97*(2), 227-232.

Wagner, W. L., Herbst, D. R., & Sohmer, S. H. (1999). *Manual of the flowering plants of Hawai'i*. University of Hawai'i Press.

War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H. C. (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant signaling & behavior*, 7(10), 1306-1320.

Zhang, J. S., Liu, X., Weng, J., Guo, Y. Q., Li, Q. J., Ahmed, A., & Yin, S. (2017). Natural diarylfluorene derivatives: isolation, total synthesis, and phosphodiesterase-4 inhibition. *Organic Chemistry Frontiers*, *4*(2), 170-177.