

Insecticidal potential of endemic *Magnolias* from Mexico against the cricket *Acheta domesticus*

Potencial insecticida de *Magnolias* endémicas de México contra el grillo *Acheta domesticus*

Brien Tom¹, Flores-Hernández Andrik Maximiliano², García-Herrera Andrea Michelle², Razo-Colmenero José Jorge², Villegas-Barajas Milton², Jiménez-Pérez Georgina³, Infante-Rodríguez Dennis Adrián³, Vásquez-Morales Suria Gisela³

¹Université de Caen, Esp. De la Paix, 14000 Caen, France.

²Licenciatura en Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato.

³Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Guanajuato. sg.vasquez@ugto.mx

Resumen

En este estudio se evaluó la actividad insecticida por contacto de extractos etanólicos foliares de *Magnolia pugana* y *M. vovidesii*. Para ello se utilizaron ninfas de 15-20 días de edad de *Acheta domesticus* provenientes de una cría mantenida bajo condiciones de laboratorio. Los resultados mostraron que los extractos foliares de *M. pugana* exhibieron actividad insecticida por contacto a las 72h de exposición. Como lo esperábamos, el control positivo con Spinetoram (insecticida comercial) provocó las mayores mortalidades, con un promedio de 100%, mientras que los extractos etanólicos de *M. pugana* presentaron mortalidades entre 10% y 45.8%, la menor mortalidad se observó en el control negativo con agua con una mortalidad promedio de 10%. El análisis cualitativo mediante cromatografía en capa fina reveló que los extractos foliares son mezclas complejas de compuestos altamente polares y polares medios, donde se observa una mayor separación en los sistemas de polaridad de etanol al 96% y acetonitrilo al 100%.

Palabras clave: Gryllidae, Magnoliaceae, metabolitos secundarios, insecticidas botánicos, plaga.

Abstract

In this study, the contact insecticidal activity of ethanolic leaf extracts of *Magnolia pugana* and *M. vovidesii* was evaluated. For this purpose, 15-20-day-old nymphs of *Acheta domesticus* from a colony maintained under laboratory conditions were used. The results showed that the foliar extracts of *M. pugana* exhibited contact insecticidal activity after 72 h of exposure. As expected, the positive control with spinetoram (commercial insecticide) caused the highest mortalities with an average of 100%, while the ethanolic extracts of *M. pugana* presented mortalities between 10% and 45.8%, the lowest mortality being observed in the negative control with water, with an average mortality of 10%. Qualitative analysis by thin-layer chromatography showed that the leaf extracts are complex mixtures of high polar and medium polar compounds, with better separation observed in the polarity systems of ethanol 96% and acetonitrile 100%.

Keywords: Botanical insecticides, Gryllidae, Magnoliaceae, secondary metabolites, pest.

Introducción

La familia Magnoliaceae es una de las más antiguas entre las plantas con flores, con fósiles desde el Jurásico, sugiriendo que la primera flor de angiospermas era similar a una *Magnolia* (Sankar 2020). Actualmente, comprende 314 especies reconocidas, de las cuales 228 están protegidas por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (Rivers et al., 2016; Azuma et al., 2001). En México, hay 30 especies de *Magnolia*, de las cuales seis están en peligro crítico, 13 en peligro de extinción, cuatro vulnerables, una casi amenazada y seis con datos insuficientes (Rivers et al., 2016). Estas plantas enfrentan riesgos como pérdida de hábitat, deforestación y cambio climático (Wang et al., 2022). Conocidas por sus flores grandes y atractivas, a menudo se cultivan por su valor ornamental en parques y jardines públicos (Liang et al. 2020), también se utilizan con propósitos medicinales (Rivers et al., 2016).

La bioprospección vegetal busca descubrir nuevos fármacos, fitoquímicos y otros compuestos útiles (Infante-Rodríguez et al., 2022). Los pesticidas botánicos en comparación con los sintéticos, ofrecen beneficios ambientales significativos al ser biodegradables y descomponerse rápidamente, lo que reduce el riesgo para organismos no objetivos y contaminación ambiental (Campos et al., 2019). Aunque su acción residual es breve, algunos pesticidas botánicos se utilizan como

tratamientos de barrera, basando su eficacia en efectos conductuales como la repulsión y la disuasión, más que en la toxicidad aguda (Isman 2008).

En la búsqueda de nuevas moléculas que puedan ser desarrolladas como insecticidas botánicos, recientemente se han estudiado magnolias endémicas de México debido a su capacidad de producir metabolitos secundarios insecticidas en algunas estructuras vegetales como la sarcotesta que es la cubierta roja que cubre las semillas (Flores-Estéves et al., 2013). En 2015, se encontró que *Magnolia schiedeana* tuvo un efecto similar tanto en la sarcotesta como en la semilla sobre *A. ludens* (Vásquez-Morales et al., 2015). En 2022, Vásquez-Morales et al., informaron que los extractos de sarcotesta de *M. vovidesii*, *M. pugana* y *M. perezfarrerae* mostraban actividad bioinsecticida contra dos especies de moscas de la fruta (*A. ludens* y *A. obliqua*). Además, se realizaron análisis químicos cualitativos que revelaron la presencia de compuestos con baja y mediana polaridad en los extractos de sarcotesta (Vásquez-Morales et al., 2022). Sin embargo, los extractos foliares de las especies anteriormente descritas no han sido evaluados para determinar si existe toxicidad en plagas de ortópteros. De tal manera, en la búsqueda de nuevos insecticidas botánicos y dado los antecedentes de la presencia de compuestos con potencial insecticida de algunas especies de magnolia, nosotros hipotetizamos que los extractos foliares pueden presentar toxicidad por contacto sobre grillos (*Acheta domesticus*). De tal manera que los objetivos de este trabajo fueron: 1) Evaluar mediante bioensayos de contacto el potencial insecticida de extractos botánicos foliares de *Magnolia pugana* y *M. vovidesii* sobre ninfas de 15-20 días de edad de *A. domesticus* bajo condiciones de laboratorio experimental, y 2) Realizar análisis cualitativos de los extractos etanólicos foliares mediante cromatografía en capa fina.

Materiales y métodos

Recolección e identificación de plantas

Las hojas utilizadas en este estudio se recolectaron de dos sitios diferentes en México durante agosto de 2022 y abril de 2023 con base en las etapas fenológicas de cada especie de *Magnolia*. Se recolectó material vegetal de *M. vovidesii* en la comunidad de Coyopolan, Ixhuacán de los Reyes, Veracruz (19°21'59"N, 97°04'05"O), posteriormente, se recolectó material vegetal de *M. pugana* en el "Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias" (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara, en Zapopan, Jalisco (20°44'51"N, 103°30'46"O) (Figura 1). La determinación taxonómica fue realizada por la Dra. Suria Gisela Vásquez-Morales y corroborada por curadores del Herbario Xal- Instituto de Ecología A.C. (Voucher XAL72936, XAL0150849).

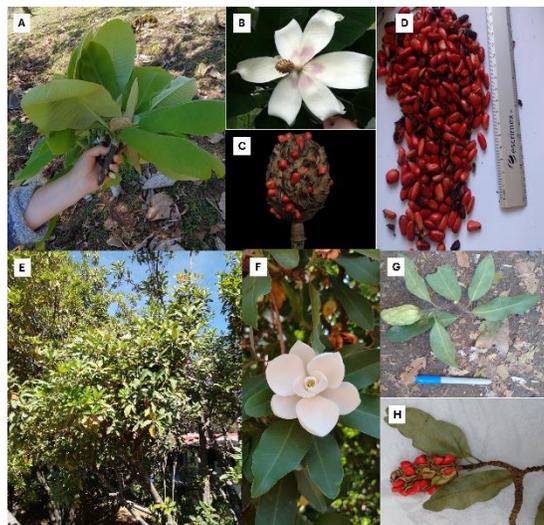


Figura 1. Estructuras vegetativas de *Magnolia vovidesii* y *M. pugana*: A. Hojas, B. Flor, C. Polifóliculo, D. Semillas de *M. vovidesii*, E. Árbol, F. Flor y hojas, G. Fruto inmaduro y H. Fruto maduro con semillas expuestas de *M. pugana*.

Preparación del extracto foliar

A partir del material vegetal previamente deshidratado y pulverizado se tomaron muestras de 50g de polvo foliar de cada especie y se maceraron en etanol al 96% (1:5 p.v.⁻¹). Para cada especie, los extractos de *Magnolia* se almacenaron a 25 ±

2 °C durante 7 d. Posteriormente, se eliminó el solvente de cada macerado y éste se concentró en un evaporador rotatorio (Büchi, Modelo R-300; Suiza), ajustado a 60 °C. Se obtuvo un rendimiento final del extracto seco de *M. pugana* de 5.73 g y para *M. vovidesii* fue de 2.67 g.

Ensayos de actividad insecticida

El método de bioensayo empleado siguió el procedimiento operativo estándar para la impregnación de papel filtro para evaluar la sensibilidad a los insecticidas de la OMS (2022) con modificaciones menores. Para ello se cortaron discos circulares de papel filtro (5.5 cm de diámetro) y se colocaron dentro de botes plásticos con tapa (100 mL de capacidad). Cada disco de papel se impregnó con uno de los siguientes tratamientos: 1 mL de agua purificada como control negativo, 1 mL de Spinetoram (Palgus TM, Dow Agrosciences, México) a 0.43 mg/mL (control positivo), para *M. pugana* y *M. vovidesii* se ensayaron las siguientes seis concentraciones: C1 (50 mg/mL), C2 (25 mg/mL), C3 (10 mg/mL), C4 (5 mg/mL), C5 (2 mg/mL) y C6 (1 mg/mL). Se colocaron 5 grillos de 15-20 días de edad en cada tratamiento y se registró la mortalidad diaria durante 72 horas, todos los experimentos se realizaron con cinco repeticiones por tratamiento en un diseño completamente al azar. El número de grillos muertos se transformó a porcentaje de mortalidad mediante la fórmula $M (\%) = (\text{número de insectos muertos} / 5) \times 100$, posteriormente, se utilizó la corrección de Abbott para obtener el porcentaje de mortalidad corregido para considerar la mortalidad natural entre los tratamientos y el control positivo mediante la fórmula $CM (\%) = ((M\% \text{ muestra} - M\% \text{ control negativo}) / (100 - M\% \text{ control negativo})) \times 100$.

Análisis estadístico

Todos los datos se expresaron como el promedio ($n = 5$) \pm DE y se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis seguida de la prueba post-hoc de Dunn para comparaciones de grupos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con la biblioteca Agricolae (De Mendiburu, 2010) en el software R v. 4.1.2 (R Core Team, 2020).

Resultados

En el caso del extracto etanólico de hoja de *M. pugana* las diluciones correspondientes a C1 (50 mg/mL), C2 (25 mg/mL), C3 (10 mg/mL) y C4 (5 mg/mL) presentaron un efecto similar con respecto a la mortalidad de *Acheta domesticus*. Por otro lado, C5 (2 mg/mL) y C6 (1 mg/mL) presentaron una baja tasa de mortalidad. Se encontraron diferencias significativas con respecto a la mortalidad de los grillos *A. domesticus* por vía contacto a las 72 horas ($H=31.738$, $G1=7$, $P<0.05$). El Spinetoram presentó una mortalidad promedio de $100 \pm 0\%$ (Media \pm DE) de mortalidad corregida, para el caso de C1 se obtuvo una mortalidad de $37.5 \pm 14.7\%$, en C2 fue de $33.33 \pm 9.31\%$, en C3 de $45.83 \pm 18.63\%$, C4 de $33.33 \pm 9.31\%$ (Media \pm DE). Mientras en la C5 se encontró una mortalidad de $20.83 \pm 9.31\%$ y en C6 de $10 \pm 9.12\%$. En el control negativo (agua) se observó una mortalidad de $3.33 \pm 7.33\%$ (Figura 2).

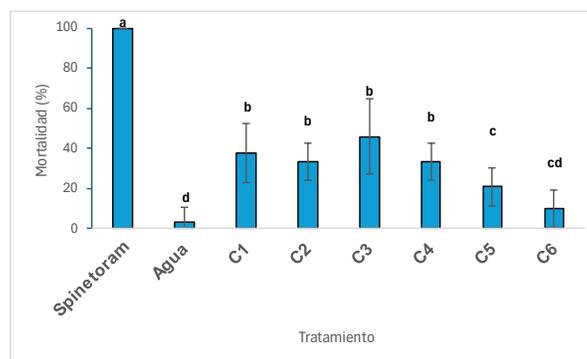


Figura 2. Porcentaje de mortalidad (Media \pm DE) del extracto etanólico de hoja de *M. pugana* a 72 horas por contacto contra *A. domesticus* en 6 concentraciones C1 (50 mg/mL), C2 (25 mg/mL), C3 (10 mg/mL), C4 (5 mg/mL), C5 (2 mg/mL), C6 (1 mg/mL), CP= Spinetoram (0.43 mg/mL), CN=agua. Las letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En el caso del extracto etanólico de hoja de *M. vovidesii* las seis diluciones correspondientes (50-1 mg/mL) presentaron un efecto similar con respecto a la mortalidad de *Acheta domesticus*. Se encontraron diferencias significativas con respecto a la mortalidad de los grillos *A. domesticus* por vía contacto a las 72 horas ($H=17.813$, $G1=7$, $P<0.05$). El Spinetoram presentó una mortalidad promedio de $100 \pm 0\%$ (Media \pm DE) de mortalidad corregida. En el control negativo (agua) se observó una mortalidad de $5.45 \pm 15.9\%$ (Figura 3).

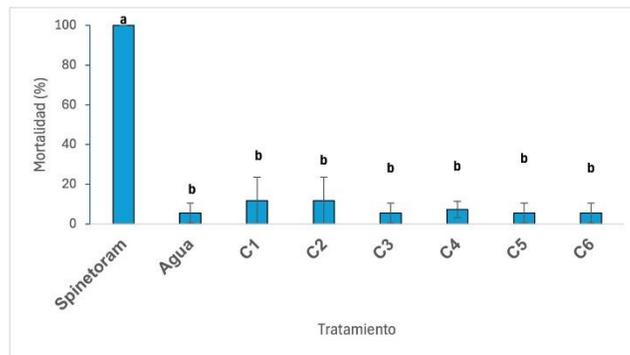


Figura 3. Porcentaje de mortalidad (Media \pm DE) del extracto etanólico de hoja de *M. vovidesii* a 72 horas por contacto contra *A. domesticus* en 6 concentraciones C1 (50 mg/mL), C2 (25 mg/mL), C3 (10 mg/mL), C4 (5 mg/mL), C5 (2 mg/mL), C6 (1 mg/mL), CP= Spinetoram (0.43 mg/mL), CN=agua. Las letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

El análisis cualitativo mediante cromatografía en capa fina reveló que los extractos foliares de *Magnolia pugana* y *M. vovidesii* son mezclas complejas de compuestos altamente polares y polares medios donde se observa una mayor separación en los sistemas de polaridad de etanol al 96% y acetonitrilo al 100% (Figura 4).

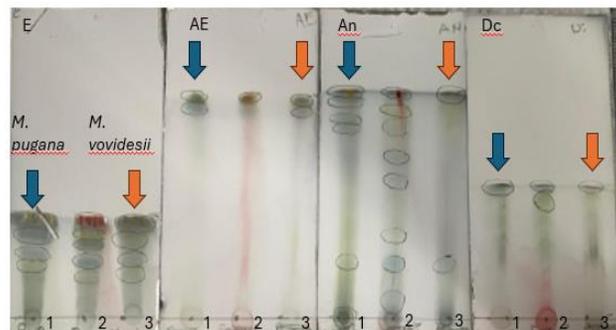


Figura 4. Cromatografía en capa fina de los extractos etanólicos foliares de las especies evaluadas en cada placa en diferentes solventes de polaridad (Dc= diclorometano 100%, AE= acetato de etilo 100%, An= acetonitrilo 100%, E= etanol 96%) reveladas con vainillina.

El extracto foliar de *M. pugana* en el sistema de polaridad con acetonitrilo 100% ($R_f=0.23$, $R_f=0.82$, $R_f=0.94$, $R_f=0.98$) y etanol 96% ($R_f=0.5$, $R_f=0.6$, $R_f=0.76$, $R_f=0.93$) se observó la presencia de cuatro compuestos. El extracto foliar de *M. vovidesii* en el sistema de polaridad con acetonitrilo 100% se observó la presencia de dos compuestos ($R_f=0.17$, $R_f=0.98$) y etanol 96% se observó la presencia de cuatro compuestos ($R_f=0.4$, $R_f=0.53$, $R_f=0.73$, $R_f=0.9$) (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización química preliminar (CCF) de los extractos etanólicos de hoja de *Magnolia pugana* y *M. vovidesii*. Se muestran los factores de retención observados en cada placa en diferentes solventes de polaridad (diclorometano 100%, acetato de etilo 100%, acetonitrilo 100%, etanol 96%). Los solventes están ordenados de acuerdo con su polaridad de menor a mayor.

Factor de retención (Rf)			
Polaridad	Solvente	<i>M. pugana</i>	<i>M. vovidesii</i>
Media	Diclorometano	0.85	0.97
		0.95	
Media	Acetato de etilo	0.92	0.95
		0.96	
Media	Acetonitrilo	0.23	0.17
		0.82	
		0.94	
		0.98	
Alta	Etanol	0.5	0.4
		0.6	
		0.76	
		0.93	
		0.53	
		0.73	
		0.9	

Discusión

Las plantas producen compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides como mecanismos de respuesta frente a insectos herbívoros y fitopatógenos (Ahmed et al., 2019; Bhattacharya et al., 2010). Las magnolias tienen un alto potencial insecticida contra *Tephritidae* (Vásquez-Morales et al., 2015, Hernández-Rocha y Vásquez-Morales, 2023). Entre los pesticidas botánicos existe un amplio rango de efectividad que está determinado por la especie botánica, sus estructuras vegetativas y las especies de plagas objetivo (Vásquez-Morales et al., 2022).

Los insecticidas de origen natural presentan menor riesgo de biomagnificación, así como mayor especificidad a especies plaga, reducción de costos, ofrecen mayor protección a los agricultores, disminuyen el desgaste de los suelos y debido a su amplio espectro generan menor resistencia por parte de la plaga (Seiber et al., 2014). El extracto foliar de *M. pugana* en un rango de concentración 5-50 mg/mL obtuvo una mortalidad moderada sobre *Acheta domesticus* de 33-45%. Por el contrario, el extracto foliar de *M. vovidesii* en un rango de concentración 1-50 mg/mL obtuvo una mortalidad baja sobre *Acheta domesticus* de 5-11%. Algunas especies endémicas de México como *M. schiedeana* presentan una mortalidad del 31% sobre *Anastrepha ludens* tanto en extractos de hoja madura (1.75 g/mL) y joven (3.78 g/mL) por ingestión (Vásquez-Morales et al., 2015). Esto sugiere que los extractos de *M. pugana* evaluados en *A. domesticus* presentan mayor toxicidad por contacto.

Los extractos de sarcotesta de *M. pugana* y *M. vovidesii* han presentado alta toxicidad por contacto en *Acheta domesticus* (CL₅₀=0.02 y CL₅₀=0.2 mg/mL, respectivamente) (Pérez-Rubio et al., 2023). Por lo tanto, podemos deducir que las estructuras vegetativas de estas especies presentan diferente potencial insecticida en *A. domesticus*. Por ejemplo, los compuestos de sarcotesta presentan mayor afinidad a solventes con baja y media polaridad (hexano 100%, acetona 100%) al contrario de los compuestos de la hoja presentan mayor afinidad a solventes con alta polaridad (etanol 96%, acetonitrilo 100%). Estudios previos reportan que la sarcotesta de *M. pugana* presenta alto contenido de alcaloides, flavonoides y terpenos, y la sarcotesta de *M. vovidesii* tiene cantidades moderadas de alcaloides, flavonoides y terpenos (Vásquez-Morales et al., 2022). Por ejemplo en extractos etanólicos foliares de *M. grandiflora* se han reportado alcaloides, acompañados de lignanos y neolignanos, lactonas sesquiterpénicas, antraquinona y triterpenos (Ravagli, 2017).

Las magnolias tienen un lugar importante en la cultura y la flora de México debido a su belleza ornamental y sus propiedades medicinales (Domínguez-Yescas et. al., 2019). Es importante tomar medidas para proteger y conservar estas plantas para garantizar su disponibilidad para su uso cultural y agrobiotecnológico en el futuro. Sin embargo, a pesar de su valor cultural y medicinal, las magnolias en México enfrentan amenazas como la deforestación y el cambio climático siendo consideradas ambas especies en peligro de extinción por la UICN (Vásquez-Morales et. al., 2014, Rivers et. al., 2016). La pérdida de hábitat y la explotación humana pueden poner en riesgo la supervivencia de estas plantas y reducir su disponibilidad para su uso en el beneficio de la sociedad (Infante-Rodríguez, 2023).

Conclusiones

Como conclusiones generales el extracto etanólico de hoja de *Magnolia pugana* presentó actividad bioinsecticida contra *Acheta domesticus*, cumpliéndose nuestra hipótesis planteada. Para estimar la CL₅₀ y CL₉₀ se sugiere utilizar concentraciones de extracto foliar arriba de 50 mg/mL en *M. pugana*. Al contrario, el extracto de hoja de *M. vovidesii* presentó una baja actividad bioinsecticida. El análisis cualitativo mediante cromatografía en capa fina reveló que los extractos foliares son mezclas complejas de compuestos polares y polares medios donde se observa una mejor separación en los sistemas de polaridad de etanol al 96% y acetonitrilo al 100%. Como la mayoría de los compuestos presentes en el extracto son de polaridad media y alta se plantea realizar un estudio más detallado sobre los metabolitos secundarios presentes utilizando técnicas analíticas como la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas para caracterizar los compuestos químicos que presentan actividad bioinsecticida.

Bibliografía

- Azuma H, García-Franco JG, Rico-Gray V, Thien LB. 2001. Molecular phylogeny of the Magnoliaceae: the biogeography of tropical and temperate disjunctions. *American Journal of Botany* 88(12): 2275-2285. <https://doi.org/10.2307/3558389>
- Campos EV, Proença PL, Oliveira JL, Bakshi M, Abhilash PC, Fraceto LF. 2019. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecological indicators* 105: 483-495. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.04.038>
- Domínguez-Yescas, R.; Vázquez-García, J.A. Flower of the heart, *Magnolia yajlachhi* (subsect. Talauma, Magnoliaceae), a new species of ceremonial, medicinal, conservation and nurse tree relevance in the Zapotec culture, Sierra Norte de Oaxaca, Mexico. *Phytotaxa* 2019, 393, 21.
- Flores-Estévez N, Vázquez-Morales SG, Cano-Medina T, Sánchez-Velásquez LR, Noa-Carrazana JC, Díaz-Fleischer F. 2013. Insecticidal activity of raw extracts from *Magnolia dealbata* Zucc on a tephritidae pest. *Journal of Environmental Science and Health, part B* 48:585-589.
- Infante-Rodríguez DA, Landa-Cansigno C, Gutiérrez-Sánchez A, Murrieta-León DL, Reyes-López C, Castillejos-Pérez AB, Guerrero-Analco JA. 2022. Análisis fitoquímico y actividad antidiabética, antibacteriana y antifúngica de hojas de *Bursera simaruba* (Burseraceae). *Acta Botánica Mexicana* (129). <https://doi.org/10.21829/abm129.2022.2109>
- Isman MB. 2008. Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* 64(1): 8-11. <https://doi.org/10.1002/ps.1470>
- Liang A, Luo W, Li Z, Sima Y, Xu T. 2020. The complete chloroplast genome sequence of *Magnolia delavayi* (Magnoliaceae), a rare ornamental and medical tree endemic to China. *Mitochondrial DNA Part B* 5(1): 883-884. <https://doi.org/10.1080/23802359.2020.1717391>
- Pérez-Rubio LV, Mendez-Rocha V, Ríos Gastelum NJ, Hernández-Martínez EL, Chávez-Olvera MI, Infante-Rodríguez DA, Vázquez-Morales SG. 2023. Extractos vegetales de *Magnolia* spp. como insecticidas botánicos para el control del grillo doméstico *Acheta domesticus* (Linnaeus, 1758). *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 21, 1-9.
- Ravagli, A. C. (2017). Variación del metaboloma y la composición alcaloidal en *Magnolia grandiflora* (MAGNOLIACEAE) de la sabana de Bogotá. Facultad de Ciencias Básicas.
- Rivers M, Beech E, Murphy L, Oldfield S. 2016. The red list of Magnoliaceae revised and extended. *Botanic Gardens Conservation International*.
- Seiber, J. N., Coats, J., Duke, S. O., & Gross, A. D. (2014). Biopesticides: state of the art and future opportunities. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(48), 11613-11619.

- Shankar U. 2020. Primitive angiosperms in the Indian Subcontinent: Taxonomic diversity and geographical distribution of Magnoliaceae Juss. (APG IV). *Pleione* 14: 137-151. <https://doi.org/10.26679/Pleione.14.1.2020.131-151>.
- Vásquez-Morales SG, Álvarez-Vega EA, Infante-Rodríguez DA, Huchin-Mian JP, Pedraza-Reyes M. 2022. Evaluación de extractos de árboles endémicos (*Magnolia* spp.) de México contra la plaga de la mosca de la fruta y estudio fitoquímico preliminar. *Polibotánica* 53: 167-182. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.11>
- Vásquez-Morales SG, Flores-Estévez N, Sánchez-Velásquez LF, Pineda-López MR, Viveros-Viveros H, Díaz-Fleischer F. 2015. Bioprospecting of botanical insecticides: The case of ethanol extracts of *Magnolia schiedeana* Schltdl. applied to a Tephritid, fruit fly *Anastrepha ludens* Loew. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 3(1): 01-05 <https://doi.org/10.1080/03601234.2013.774933>.
- Vásquez-Morales, S.G., Téllez-Valdés O., Pineda-López M.R., Sánchez-Velásquez L.R., Flores-Estévez, N., and Viveros-Viveros H. 2014. Effect of climate change on the distribution of *Magnolia schiedeana*: a threatened species. *Botanical Sciences* 92: 575-585.
- Wang WT, Guo WY, Jarvie S, Serra-Diaz JM, Svenning JC. 2022. Anthropogenic climate change increases vulnerability of *Magnolia* species more in Asia than in the Americas. *Biological Conservation* 265: 109425. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109425>
- World Health Organization. 2022. Standard operating procedure for testing insecticide susceptibility of adult mosquitoes in WHO bottle bioassays.