

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería



“Evaluación plaguicida de extractos de la parte aérea de *Quercus agrifolia* frente y la araña roja (*Tetranychus urticae*) y el piojo harinoso de la vid (*Planococcus ficus*)”

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B TANIA MONSERRAT PEÑALOZA FELIX

Tijuana, B.C., Noviembre de 2022

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.334

Tijuana, B.C., a 11 de noviembre del 2022

C. Tania Monserrat Peñaloza Félix
Pasante de: Maestría en Ciencias
Presente

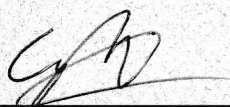
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

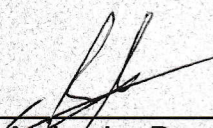
Es propuesto, por los C. Dr. Iván Córdova Guerrero y
Dra. Laura Janeth Díaz Rubio

Quienes serán las responsables de la calidad del trabajo que usted presente,
referido al tema “Evaluación plaguicida de extractos de la parte aérea
de Quercus agrifolia frente y la araña roja (Tetranychus urticae) y el piojo
harinoso de la vid (Planococcus ficus)”.

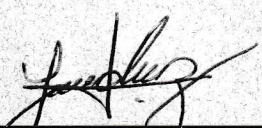
El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I. INTRODUCCIÓN
- II. HIPÓTESIS
- III. OBJETIVOS
- IV. GENERALIDADES
- V. METODOLOGIAS
- VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. BIBLIOGRAFIA
- IX. APÉNDICES


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Sub-Directora


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director




Dra. Laura Janeth Díaz Rubio
Co - Directora de Tesis


Dr. Iván Córdova Guerrero
Director de Tesis

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater, la Universidad Autónoma de Baja California y a la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, por darme la oportunidad de formar parte del cuerpo estudiantil durante mi formación profesional.

A los miembros de mi comité de tesis, por ser parte esencial de mi formación académica.

Les doy mi más profundo agradecimiento a mis directores de tesis, por la confianza, las enseñanzas, y la motivación para continuar con nuevos proyectos, me siento muy afortunada por la oportunidad de trabajar con ustedes.

Al Dr. Iván Córdova Guerrero, le agradezco mucho la oportunidad y la guía durante este tiempo como tutor, profesor y director de tesis, es para mí un gran honor ser parte del laboratorio.

A la Dra. Laura Díaz, gracias por la infinita ayuda, significa mucho para mí toda enseñanza transmitida.

A Rocío, me siento afortunada de haber coincidido, gracias por siempre andar en el mismo modo, por compartir tanto conmigo y siempre tenerme en cuenta.

A Lluvia, muchas gracias por todo, los mejores consejos, eres mi apoyo en fallas y logros. Tuve mucha fortuna de conocerte, poder aprender de ti y tu gran compañerismo.

Arturo, gracias por el infinito apoyo, eres una excelente persona, significa mucho para mí el haber compartido tanto contigo y el tener la oportunidad de seguir aprendiendo de ti.

A Denise, gracias por estar siempre, por las subidas de ánimo y las salidas. He aprendido mucho de ti y jamás dejare de creer en mí misma y lo que puedo lograr.

Por último, a mi madre, por siempre estar ahí para mí, por siempre ofrecer ayuda y por ser la más grande inspiración de superación que conozco, el amor y el apoyo brindado no se compara con nada, este trabajo está dedicado para ti, espero seguir llenándote de orgullo en cada paso de mi formación.

RESUMEN

RESUMEN

Las plantas han desempeñado un papel fundamental en la vida del hombre, quien las ha utilizado para suplir necesidades básicas como alimento, medicina, vivienda y vestido, siendo transmitidos estos conocimientos a sucesivas generaciones, y se han ido perfeccionando por el rigor científico.

De la gran diversidad de especies de encinos que se conocen, algunos han sido estudiados fitoquímicamente debido al atractivo generado por su amplio uso medicinal y comercial, sin embargo, es necesario ampliar esta información en la búsqueda de nuevos principios activos.

Actualmente se sabe que algunos productos naturales tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas; por tanto, en los últimos años se está retornando su uso como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana.

El piojo harinoso de la vid y la araña roja se consideran de las especies más dañinas y difíciles de manejar en el complejo tradicional de plagas, lo que las convierte en una grave amenaza debido al fuerte impacto económico por las pérdidas en producción e incremento de costos de manejo.

Es entonces donde surge el planteamiento de que los componentes de la parte aérea del encino *Quercus agrifolia* presentan actividad plaguicida frente a las especies *Tetranychus urticae* (araña roja) y *Planococcus ficus* (piojo harinoso de la vid), teniendo como objetivo la evaluación del perfil polifenólico de diversos extractos generados a partir del fruto y hoja, para su posterior evaluación como acaricidas e insecticidas.

Mediante los distintos experimentos llevados a cabo durante este trabajo, se determinó que los extractos alcohólicos del encino mostraron un mejor perfil polifenólico respecto a los extractos acuosos, destacando particularmente el de bellota con un mayor contenido de taninos y polifenoles totales. Respecto a la evaluación acaricida e insecticida, el extracto metanólico de bellota también presentó los mejores resultados con la concentración letal media (CL50) más baja.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. HIPÓTESIS.....	8
3. OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES	10
4. GENERALIDADES	12
4.1 Familia Fagaceae	13
4.2 Aspectos generales del género <i>Quercus</i>	14
4.3 El género <i>Quercus</i> en México	15
4.4 <i>Quercus agrifolia</i>	15
4.5 Estudios fitoquímicos de las especies del género <i>Quercus</i>	17
4.6 <i>Planococcus ficus</i>	21
4.7 <i>Tetranychus urticae</i>	22
5. METODOLOGÍA.....	23
5.1 Recolección de material vegetal.....	24
5.2 Generación de extractos	25
5.3 Tamizaje fitoquímico mediante pruebas colorimétricas	27
5.4 Determinación cuantitativa de compuestos polifenólicos	28
5.5 Determinación cuantitativa de flavonoides totales.....	29
5.6 Determinación cuantitativa de compuestos de tipo tanino.....	30
5.7 Ensayos de toxicidad empleando larvas de <i>Artemia salina</i>	31
5.8 Ensayo de actividad acaricida frente a <i>Tetranychus urticae</i>	33

5.9 Experimento de actividad repelente frente a <i>Tetranychus urticae</i>	35
5.10 Evaluación de la actividad insecticida frente a <i>Planococcus ficus</i>	36
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	38
6.1 Generación de extractos	39
6.2 Tamizaje fitoquímico mediante pruebas colorimétricas	40
6.3 Determinación de compuestos polifenólicos	41
6.4 Determinación cuantitativa de flavonoides totales	42
6.5 Determinación cuantitativa de compuestos de tipo tanino	43
6.6 Ensayos de toxicidad empleando larvas de artemia salina	44
6.7 Ensayos de actividad acaricida empleando araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>).	45
6.8 Ensayos de actividad repelente empleando araña roja (<i>Tetranychus urticae</i>).	46
6.9 Evaluación de actividad insecticida utilizando como modelo a <i>Planococcus ficus</i> ..	47
7. CONCLUSIONES	49
8. BIBLIOGRAFÍA	52
9. TÉCNICAS	57
EXPERIMENTALES	57
INSTRUMENTACIÓN	58
REACTIVOS	58

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos aislados a partir de extractos de <i>Quercus incana</i>	18
Figura 2 Compuestos aislados a partir de extractos de <i>Quercus coccifera</i>	19
Figura 3. Compuestos aislados a partir de extractos de <i>Quercus dilatata</i>	20
Figura 4 Ciclo de vida de <i>Planococcus ficus</i>	21
Figura 5. <i>Tetranychus urticae</i>	22
Figura 6. Encino de <i>Quercus agrifolia</i> utilizado para la recolección	24
Figura 7. Localización geográfica para recolección	24
Figura 8. Hoja y fruto de <i>Quercus agrifolia</i>	25
Figura 9. (Izquierda) Maceración de la hoja, (derecha) Maceración de la bellota.	26
Figura 10. (Izquierda) Decocción de la hoja, (derecha) Decocción de la bellota.	26

ÍNDICE DE GRÁFICAS

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Curva de calibración con ácido gálico	28
Gráfica 2. Curva de calibración con quercetina	29
Gráfica 3. Curva de calibración con ácido tánico	30
Gráfica 4. Resultados de cuantificación de polifenoles totales	41
Gráfica 5. Resultados de cuantificación de flavonoides totales	42
Gráfica 6. Resultados de cuantificación de compuestos de tipo tanino	43
Gráfica 7. Resultados de evaluación insecticida	47
Gráfica 8. Resultados de evaluación insecticida	48

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Quercus agrifolia</i>	16
Tabla 2 Pruebas colorimétricas y métodos correspondientes al tamizaje fitoquímico ...	27
Tabla 3. Concentraciones empleadas por extracto para ensayos de toxicidad	31
Tabla 4. Concentraciones por extracto para ensayos de actividad acaricida	33
Tabla 5. Concentraciones por extracto para ensayos de actividad insecticida.....	36
Tabla 6. Generación de extractos de la parte aérea de <i>Quercus agrifolia</i>	39
Tabla 7. Pruebas colorimétricas de los extractos de <i>Quercus agrifolia</i>	40
Tabla 8. Resultados de Dosis Letal Media (DL ₅₀) de los extractos evaluados.....	44
Tabla 9. Resultados de Dosis Letal Media (DL ₅₀) de los extractos evaluados.....	45
Tabla 10. Resultados de Dosis Letal Media (DL ₅₀) de los extractos evaluados.....	46
Tabla 11. Resultados de Dosis Letal Media (DL ₅₀) de los extractos evaluados.....	48

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

%	Porcentaje
µg/mL	Microgramo por mililitro
µL	Microlitro
‘	Minutos
“	Segundos
°	Grados
°C	Grados Celsius
a.C	Antes de cristo
B.C	Baja California
CE₅₀	Concentración efectiva media
Cm	Centímetros
Fig.	Figura
g	Gramos
h	Hora
Kg	Kilogramos
L	Litros
M	Metro
Mg	Miligramo
mg/mL	Miligramo por mililitro
mL	Mililitro
N	Norte

Nm	Nanómetros
O	Oeste
UV	Ultravioleta
µg	Microgramos
µg EAG/100g	Microgramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 gramos de extracto seco
µg EQ/g ES	Microgramos equivalentes de quercetina por cada gramo de extracto seco

1. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Las plantas han desempeñado un papel fundamental en la vida del hombre, quien las ha utilizado para suplir necesidades básicas como alimento, medicina, vivienda y vestido, su uso es una práctica que existe desde los inicios de la especie humana. La etnobotánica es la ciencia que investiga la relación entre las plantas y la cultura humana en diferentes ambientes, la cual surge como un instrumento para rescatar tradiciones milenarias sobre los diversos usos que el hombre le ha dado a los recursos vegetales (Pino y Valois, 2004).

En China y en Egipto desde 2500 años a.C. se utilizaban cenizas de madera contra plagas de almacén o se aplicaban productos de *Derris spp.* (*Fabaceae*); hacia 400 a.C., en Mesopotamia, Persia, Roma y Dalmacia, en la antigua Yugoslavia, se empleaban las cabezuelas secas de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, para preparar polvo de piretro, producto usado para eliminar piojos y chinches; el nim tiene siglos de uso insecticida en la India; para controlar insectos en América se han empleado *Lonchocarpus nicou*, *Tephrosia vogelii*, *Schoenocaulon officinale*, *Anabasis spp.* y *Ryania speciosa* (Jacobson, 1989; Duke, 1990; Rodríguez et al., 2003 y Moore & Lenglet, 2004).

Los beneficios de los productos naturales para las civilizaciones pasadas a menudo se han transmitido a generaciones sucesivas con propiedades que se han ido perfeccionando por el rigor científico de los ensayos químicos, farmacológicos, toxicológicos y clínicos (Sewell et al., 2014).

Con la dinámica de disciplinas como la fitoquímica y la farmacognosia, la etnobotánica reviste particular interés en la búsqueda de principios bioactivos, donde juega papel importante la validación o no, de los conocimientos tradicionales (Pino y Valois, 2004).

Es entonces donde surge el conocimiento de los múltiples efectos fisiológicos, provenientes de las plantas, debido a que producen una diversidad de metabolitos bioactivos especializados que corresponden a las necesidades particulares del metabolismo secundario de la planta (Biesalski., 2009).

Actualmente se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas (Jacobson, 1989); por tanto, en los últimos años se está retornando al uso de las plantas como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana (Pérez *et al.*, 2013). Solamente se han evaluado muy pocas plantas en relación a la fuente natural que ofrece el planeta, por lo que las perspectivas futuras en investigación son aún mayores.

La agricultura ha proporcionado una fuente de alimento confiable para la población mundial; su importancia se ha reflejado en el movimiento intercultural de cultivos y razas ganaderas a lo largo de la historia, revolucionando las dietas y ayudando a reducir la pobreza (FAO, 2014).

Uno de los problemas que afronta la agricultura mundial es la pérdida de grandes volúmenes de productos alimenticios a causa de infesta por plagas, cada año debe destruirse una tercera parte de la producción de alimentos debido a los daños tanto en el sistema de cultivo, como en los de cosecha y almacenamiento (Silva *et al.*, 2005), siendo así una de las principales limitantes de la producción agrícola, por lo cual se hace imprescindible el estudio de nuevas vías para su control (Medina, 2001). Desde el punto de vista de la agricultura, una plaga se define como cualquier organismo que genere una disminución en la calidad o el rendimiento de un cultivo o cosecha en una cantidad tal que sea económicamente inaceptable para el productor (Pérez y García, 2004).

El uso de productos sintéticos es el método más utilizado de control biológico debido a los resultados inmediatos que se obtienen; sin embargo, presenta grandes problemas como un impacto letal o subletal en organismos que no son su objetivo, como predadores naturales, recicladores de nutrientes del suelo, o polinizadores de plantas que han visto alterado su ciclo de vida por causa de estos productos (Devine *et al.*, 2008; Ibrahim *et al.*, 2014).

La agricultura intensiva y el uso de químicos sintéticos, es responsable de la contaminación del aire y del agua del subsuelo, la eutrofización de los sistemas acuáticos, las emanaciones de gas invernadero y es además la fuente antropógena más importante de amonio, la causa principal de la lluvia ácida (Devine *et al.*, 2008).

El uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos, es la causa directa de la resistencia de diferentes organismos, y por consiguiente de la pérdida de su efectividad. Ante esto, es común aumentar las dosis y preparar mezclas de varios productos, con frecuencia más tóxicos, por lo que el problema de la resistencia lejos de solucionarse, se agrava. El control químico también produce otros efectos como: brotes de plagas secundarias, resurgencia de plagas y disminución de las poblaciones de enemigos naturales.

Una de las alternativas poco a poco exploradas para el control biológico son los productos naturales, considerados ambientalmente seguros, sin embargo, hace falta investigación que permita enriquecer esta línea como una opción en el control de plagas y enfermedades a nivel comercial (Cazar *et al.*, 2014).

El combate de plagas, tradicionalmente ha incluido el concepto de matar al insecto, sin embargo, actualmente se contempla cualquier agente que evite el incremento en las poblaciones y el cual puede ser implementado por el hombre o de forma natural. Las plagas de insectos son la principal preocupación de los agricultores, ello los ha llevado a ejercer prácticas inadecuadas de control, por lo que la agricultura actualmente exige no sólo una aplicación más eficaz de las tecnologías en producción de cosechas, sino la adquisición y uso efectivo de los nuevos conocimientos.

Varios bioplaguicidas eco compatibles son formulados a partir de extractos vegetales, los cuales son mezclas de principios activos de plantas obtenidos mediante extracción con un solvente apropiado, el cual es evaporado y el residuo debe ser ajustado a una concentración previamente establecida en Ensayos *in vitro* (Koul y Walia, 2009). En este contexto, las investigaciones orientadas a probar la efectividad de extractos vegetales como agentes biocontroladores de fitopatógenos en condiciones de invernadero y campo constituyen una aproximación válida para recomendar el uso de estos bioproductos en el control de plagas comunes en cultivos de importancia económica (Abdalla, 2001).

Este trabajo tiene como principal objetivo determinar el potencial uso agrícola de extractos del encino de California (*Quercus agrifolia*) para hacer frente a plagas que afectan los cultivos agrícolas de la región.

2. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Los componentes de la parte aérea de *Quercus agrifolia* presentan actividad insecticida frente a las especies *Tetranychus urticae* (araña roja) y *Planococcus ficus* (piojo harinoso de la vid).

3. OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el perfil bioplaguicida y fitoquímico de los extractos de hoja y fruto del encino *Quercus agrifolia*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Obtener extractos de hoja y fruto de *Quercus agrifolia* mediante procesos de maceración y decocción.
- ✓ Determinar el perfil polifenólico los extractos generados mediante la cuantificación de polifenoles, flavonoides y taninos totales.
- ✓ Evaluar la mortalidad de extractos de la parte aérea de *Quercus agrifolia* sobre larvas de *Artemia salina*.
- ✓ Determinar el perfil acaricida de los extractos utilizando como modelo biológico a *Tetranychus urticae* (araña roja).
- ✓ Evaluar la repelencia de la araña roja frente a los extractos de *Quercus agrifolia*.
- ✓ Evaluar la capacidad insecticida de los extractos generados frente a *Planococcus ficus* (Piojo harinoso de la vid).

4. GENERALIDADES

4.1 Familia Fagaceae

La familia Fagaceae comprende siete géneros reconocidos en la actualidad y desde 900 a 1000 especies, siendo una de las familias más grandes y de mayor importancia económica dentro del orden de los Fagales.

Las fagáceas poseen cuatro áreas de distribución disyunta, la primera que comprende Asia tropical y América tropical con el género *Trigonoblanus*; la segunda que comprende géneros entre Asia y Oeste de Norte América con los géneros *Lithocarpus* y *Castanopsis*; un tercer patrón con distribución disyunta entre Eurasia y América con los géneros *Fagus* y *Castanea*; y un cuarto patrón en Eurasia, Norte de África y América con el género *Quercus* (Li, 1996).

Existen dos centros principales de distribución de las fagáceas a nivel mundial, uno localizado en el Sureste de Asia, particularmente de los géneros *Castanea*, *Castanopsis*, *Lithocarpus* y *Quercus*, en la Provincia de Yunnan, en China, donde existen actualmente 6 géneros y 146 especies, y un segundo centro de diversificación localizado en la zona del Suroeste de Estados Unidos y México hasta Centro América, donde se localiza la mitad de las especies del género *Quercus* a nivel mundial. La distribución actual de la familia en el Continente Americano, así como la extinción de numerosas especies y varios géneros ha ocurrido a través de periodos de intensas glaciaciones, así como las formaciones y desapariciones de puentes con Eurasia (Raven y Axelrod, 1974; Zhou, 1999).

Son una de las familias más importantes de plantas leñosas en términos de biomasa total y uso económico en el hemisferio norte, donde son ampliamente usadas como fuente de madera y leña, así como en plantaciones hortícolas, las bellotas son frecuentemente consumidas por diversos grupos de fauna, desde insectos hasta mamíferos nativos y en algunas especies para consumo humano (Challenger, 1998; Luna-José, *et al.*, 2003).

Es un grupo cosmopolita de árboles o arbustos siempre verdes de hojas deciduas que habitan las regiones templadas y tropicales, se caracteriza por sus hojas lobadas que presentan estípulas, se encuentran alternadas simples y con venación pinnada, así como flores unisexuales en forma de racimos y frutos o nueces con una cúpula.

Los frutos carecen de endospermo y están acoplados en una cúpula escamosa o espinosa que puede o no englobar completamente a la bellota, y que puede consistir de 1 a 7 semillas. El grupo mejor conocido de esta familia son los encinos del género *Quercus* L. (Takhjtajan, 1969).

4.2 Aspectos generales del género *Quercus*

En la familia Fagaceae, el género *Quercus* es el que presenta mayor distribución en todo el mundo. Se encuentra en casi todos los bosques templados del Hemisferio Norte, así como en algunas regiones tropicales y subtropicales del mismo. Incluso existen algunas especies en hábitats más secos, en el sureste de Asia y nororiente de África. En América se localiza desde Canadá hasta Colombia (Valencia, 2004).

Los encinos son árboles que pertenecen al género *Quercus*, el cual abarca de 350 a 500 especies mundialmente (Rodríguez y Romero, 2007).

En cuanto a las aplicaciones y usos de los encinos, la corteza de muchas especies de *Quercus* y las agallas que forman algunos en sus hojas para alojar huevecillos y larvas de ciertos insectos himenópteros, son ricos en taninos y se utilizan en la curtiduría. (Rzedowski, 2006).

Para el uso con fines alimenticios se emplean las bellotas, las yemas foliares, las flores, las hojas y las agallas, productos que enriquecen la dieta de las comunidades indígenas con proteínas, lípidos y carbohidratos. Se encontraron diez diferentes formas de alimento proveniente de los encinos, las cuales se pueden subdividir en dos grupos.

El primero comprende el consumo natural exclusivamente de la bellota, mientras que el segundo agrupa a los productos procesados tales como capeado de las flores y tostado de las bellotas para consumirse como “semilla” o para elaborar harina para tortilla, pan, pastel, atole, chocolate, café, pinole y tamales (Luna-José *et al.*, 2003).

En medicina popular se emplean las hojas y la corteza de las ramas jóvenes, la infusión se bebe como astringente en casos de hemorragias, ciertas infecciones, tuberculosis, diarrea y disentería. En aplicaciones externas se usa contra inflamaciones bucales y uterinas, en lavados contra los sabañones y para sudor excesivo (Luna-José *et al.*, 2003).

Se han comentado ciertas aplicaciones, en algunas regiones donde los encinos son predominantes, se suele masticar pedazos de corteza para curar y endurecer encías o calmar dolencias dentales, y los amentos de algunas especies son empleados como calmantes contra el vértigo y la epilepsia (Rodríguez y Romero, 2007).

En estudios adicionales se ha dilucidado el potencial de encino como fuente sostenible de productos de alto valor añadido, como resultado de sus propiedades nutraceuticas. Se han reportado actividades antioxidantes y anticancerígenas de fitoquímicos presentes en infusiones de hojas de encino, y mecanismos de prevención del cáncer con fitoquímicos de encino que tienen potencial terapéutico en modelos *in vitro* (Rocha-Guzmán *et al.*, 2009).

4.3 El género *Quercus* en México

Este género presenta su centro de diversificación en México, ya que, de las especies estimadas a nivel mundial, entre 135 y 150 se encuentran en nuestro país, y de ellas 86 se consideran endémicas (Valencia, 2004). Los encinos representan uno de los componentes florísticos notables en diversas comunidades templadas y tropicales del país, como árboles conforman comunidades vegetales características de las zonas montañosas de México (Luna-José *et al.*, 2003).

Tanto su distribución actual como su abundancia han sido el resultado de complejos procesos históricos de migración, diversificación y adaptación relacionados a la historia climática global y a la gran heterogeneidad topográfica y ambiental (De la Paz Pérez *et al.*, 2000; Graham, 1999).

En México, las especies de encinos constituyen uno de los recursos forestales maderables más abundantes de los bosques de clima templado (Rzedowski, 2006).

4.4 *Quercus agrifolia*

También llamado encino vivo de la costa o encino vivo de California, *Quercus agrifolia*, es un árbol generalmente con altura de 6 a 12 m, pero pueden alcanzar hasta 25 m, y un diámetro a la altura del pecho de 0.3 a 1.2 m, así como una longevidad de hasta 250 años, cuando se encuentra individualmente. Su distribución se encuentra en los rangos costeros desde el norte central de California hacia el sur hasta el norte de Baja California, México.

Crece en suelos bien drenados en acantilados, pendientes suaves y cañones, y se puede encontrar hasta 1400 m de altura. Esta especie está adaptada a inviernos relativamente cálidos y húmedos y veranos secos moderados por la niebla y las temperaturas frescas, pero no ocurre donde el suelo se congela. Aunque tolerante a varios tipos de suelo, el roble vivo prefiere una franja profunda. Tiene una relación obligada con hongos micorrízicos, que proporcionan humedad y nutrientes críticos.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Quercus agrifolia*

Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fagales
Familia	Fagaceae
Género	<i>Quercus</i>
Especie	<i>Quercus agrifolia</i> Née

Recuperado de: United States Department of Agriculture (USDA) The PLANTS Database, 2020

Hoja

Es un árbol de hoja perenne, con caída en primavera después de la formación de nuevas hojas, tienen un tamaño de aproximadamente 2 a 6.4 cm de largo, y 1.3 a 3.8 cm de ancho, la forma es de oblonga a ovoide y convexa, con márgenes generalmente de punta de columna, y el color en la superficie superior es verde oscuro brillante, mientras que en la superficie inferior es verde pálido, poco brillante.

Fruto

Las bellotas tienen un periodo de desarrollo de aproximadamente un año, se consideran maduras cuando se separan libremente del casquete y caen del árbol, las viables son de color verde a marrón y tienen paredes impecables, con una forma delgada, puntiaguda, a veces ligeramente curvada. Las nueces con decoloración o exudados pegajosos, y pequeños agujeros causados por larvas de insectos, deben desecharse.

4.5 Estudios fitoquímicos de las especies del género *Quercus*

La calidad nutricional del foliaje es generalmente considerada en declinar conforme las estaciones de crecimiento progresan (Bryant *et al.*, 1983). El contenido de nitrógeno y agua exhibe decrecimiento progresivo, mientras que el contenido en fibra incrementa, disminuyendo el sabor y la fácil digestión del follaje. (Coley 1983). Feeny (1970) demostró que gran parte de los insectos lepidópteros se alimentan de *Quercus robur* temprana la primavera, cuando las hojas presentan bajo contenido de fibra y alto contenido de nitrógeno.

Para consumo humano, la bellota de *Quercus* tiene una cubierta de cascara que es comestible, altamente nutritiva, rica en carbohidratos y proteínas. El uso de especies del género *Quercus* es reconocido por sus propiedades como astringente, antiséptico y hemostático, además de un tratamiento de diarrea aguda, hemorroides y la inflamación de la mucosa oral, genital y anal. Además, las hojas en decocción de este género pueden usarse contra quemaduras y agregarse a ungüentos para la curación de heridas.

De la gran diversidad de especies que existen, solo una fracción ha sido objeto de estudios fitoquímicos. Las especies *Quercus incana*, *Quercus coccifera* y *Quercus dilata* han generado reportes sobre composición química, debido al atractivo generado por su amplio uso medicinal y comercial.

Quercus incana

La especie maderable más prometedora es considerada *Quercus incana*, la cual tiene un gran uso medicinal; se puede usar como astringente, agente diurético y para tratamiento de asma. La corteza puede ser utilizada como antipirético, antirreumático, antidiabético y antiartrítico. Dichas aplicaciones médicas y terapéuticas han impulsado algunas investigaciones fitoquímicas para explorar compuestos con actividad biológica. Como resultado de las investigaciones destaca el descubrimiento de dos metabolitos (figura 1) en una fracción de acetato de etilo. Los cuales aún no poseen nombre, sin embargo, ya han sido dilucidadas ambas estructuras por diferentes métodos de caracterización. Posteriormente ambos compuestos fueron evaluados por su actividad antifúngica contra *Aspergillus favus* y *Aspergillus niger*. Ambos mostrando actividad inhibitoria (Sarwar *et al.*, 2018).

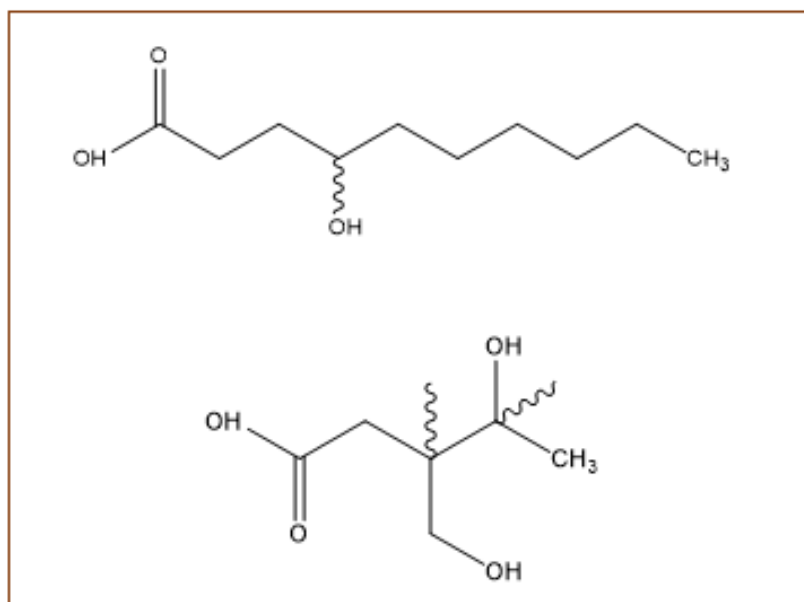


Figura 1. Compuestos aislados a partir de extractos de *Quercus incana*

Quercus coccifera

La decocción de corteza de *Quercus coccifera* es utilizada para el tratamiento de diabetes y la diarrea, se denomina "coscoja". El género *Quercus* es conocido por su contenido de varias clases de compuestos como saponinas, flavonoides y especialmente taninos. Debido al uso de esta especie en la construcción de toneles de vino y las interacciones entre el vino y la madera de roble durante la maduración del vino, esta especie se ha vuelto objeto de una intensa investigación. Como resultado de algunos trabajos de estudio en esta especie, destaca el aislamiento de tres nuevos metabolitos secundarios, Kermenosida y Cocciferosida y (-)-8-Chlorocatequina (Figura 2), (Sohretoglu Didem *et al.* 2014).

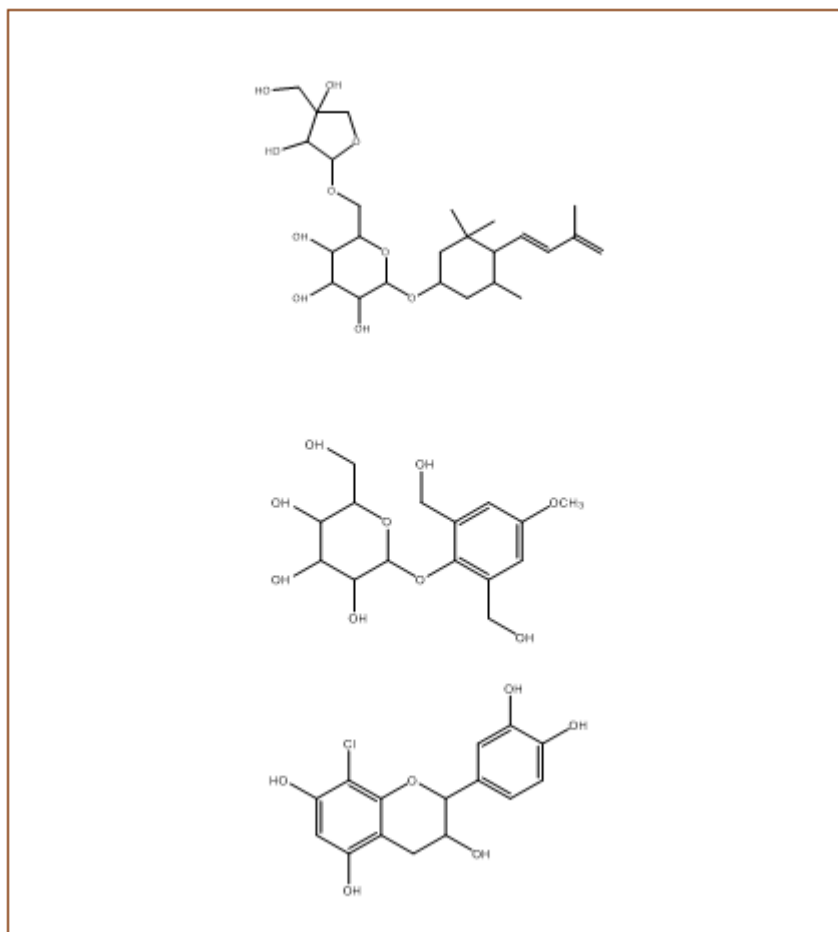


Figura 2 Compuestos aislados a partir de extractos de *Quercus coccifera*

Los extractos fueron obtenidos de corteza con metanol y posteriormente fraccionados por cromatografía en columna de poliamida, para finalmente obtenerse por separaciones cromatográficas en columna. Además, dentro del trabajo se reportó por primera vez la presencia de un glucósido megastigmano.

Quercus dilatata

Por su parte *Quercus dilata*, presenta actividades altamente conocidas como anti fúngicas, antioxidantes, y citotóxicas, lo que ha generado un gran número de investigaciones orientadas al descubrimiento de su composición, de los extractos generados a partir de este encino, han sido aislados y caracterizados dos triterpenoides con nombre friedelin y epifriedelinol (figura 3), (Ahmed Madiha *et al.* 2018).

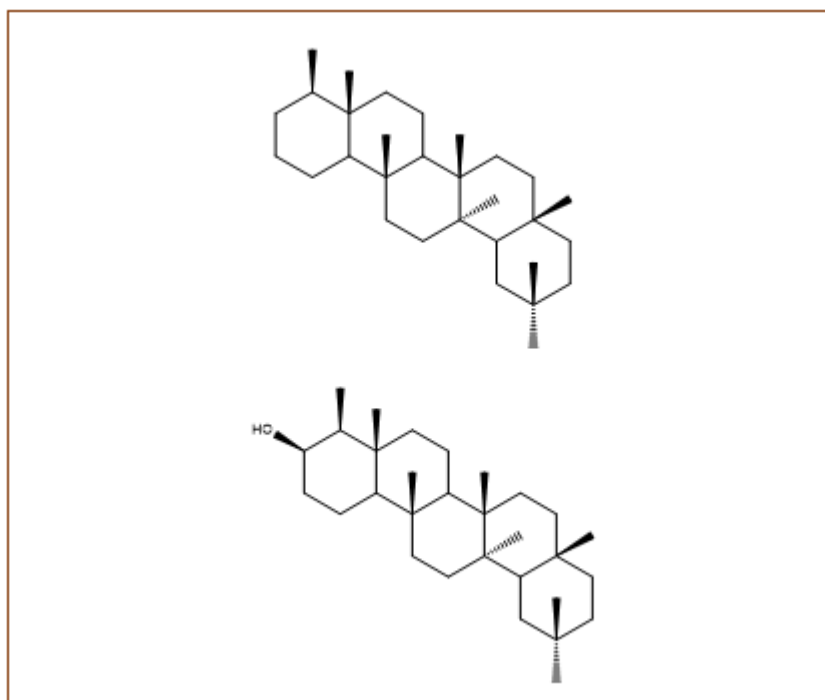


Figura 3. Compuestos aislados a partir de extractos de *Quercus dilatata*

4.6 *Planococcus ficus*

El piojo harinoso de la vid *Planococcus ficus* (figura 4), es una plaga de reciente aparición (se detectó inicialmente en la costa de Hermosillo, Sonora en noviembre de 2000) y de grave amenaza a la viticultura, ya que es considerada una de las especies más dañinas y difíciles de manejar en el complejo tradicional de plagas (Fu *et al.*, 2002).

Los piojos harinosos se alimentan sobre tejido verde o directamente bajo la corteza de la planta succionando savia del floema, la cual es rica en azúcares, pero pobre en proteínas. Para poder ingerir la cantidad adecuada de proteína deben comer grandes cantidades de savia, eliminando el exceso de azúcar ingerido a modo de melaza, la cual a su vez hace crecer mohos de hollín oscuros (*Cladosporium spp.*), además suele atraer hormigas y otras especies. (Malakar-Kuenen *et al.*, 2001).

La presencia de esta plaga puede tener un fuerte impacto económico a la viticultura regional, debido a pérdidas en producción e incremento de costos de manejo.

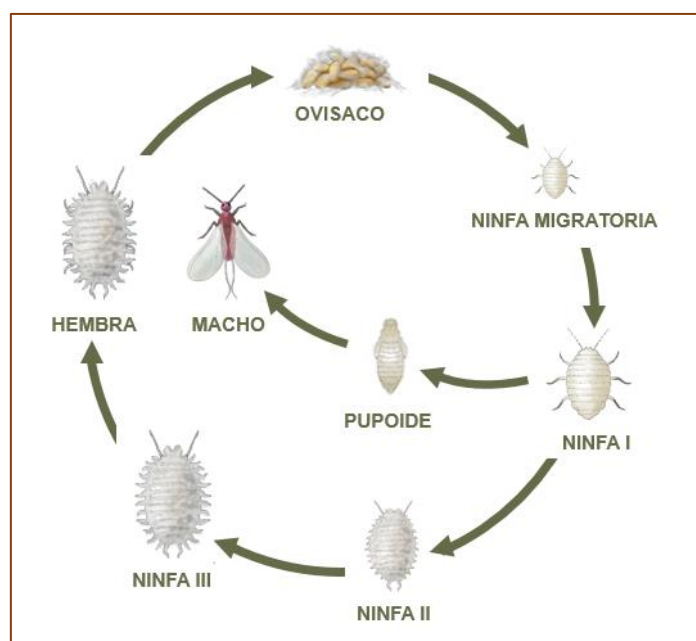


Figura 4 Ciclo de vida de *Planococcus ficus*

Generalmente, la infestación de piojo harinoso de la vid es controlada usando tratamientos constantes de insecticidas sintéticos pertenecientes a los organofosfatos, neoniconinoides e inhibidores de la biosíntesis de quitina. Sin embargo, el manejo de plagas basado únicamente en tratamientos sintéticos ha probado no ser eficiente ni sostenible, en el caso de los piojos harinosos, debido a que son pequeños y las colonias están usualmente debajo de la corteza de las plantas hospederas (Daane *et al.*, 2006).

4.7 *Tetranychus urticae*

Tetranychus urticae o la araña roja comienza su ataque en el envés de las hojas viejas, observándose una aparición de color amarillo en el haz. Viven agrupadas en el envés y forman una “telaraña” que utilizan para su protección. Son individuos muy pequeños. Los adultos de forma oval. Las larvas de color amarillo-verdoso con dos puntos oscuros característicos sobre el dorso. Las hembras adultas son de color rojo intenso (figura 5).

La araña roja con su estilete perfora las hojas y succiona el contenido celular (Bensoussan *et al.*, 2016), resultando en pérdida de clorofila (amarillamiento) y reducción de la tasa de fotosíntesis (Reddall *et al.*, 2007). A altas tasas de infestación, los ácaros pueden suprimir el desarrollo de las hojas y, en última instancia, afectar la calidad y cantidad del cultivo.



Figura 5. *Tetranychus urticae*

5. METODOLOGÍA

5.1 Recolección de material vegetal

Para este trabajo se realizó la recolección de hoja y fruto de *Quercus agrifolia* (Figura 6), en el mes de enero del año 2021, en la localidad de El Refugio, dentro del municipio de Tijuana, B.C., con localización geográfica a 32°24'47.7" N y 116°49'58.7" O, a 173.82 metros de altitud sobre el nivel del mar (Figura 7).



Figura 6. Encino de *Quercus agrifolia* utilizado para la recolección

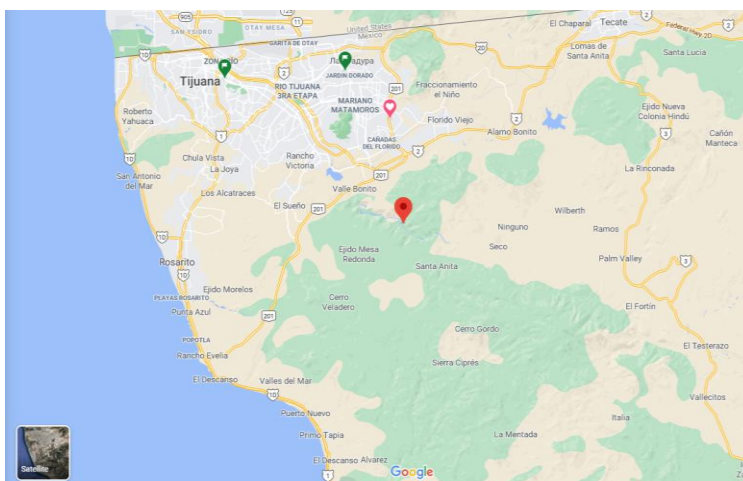


Figura 7. Localización geográfica para recolección

5.2 Generación de extractos

El material vegetal fue limpiado de un exceso de polvo y contaminantes externos, se distribuyó sobre una superficie plana para su secado a temperatura ambiente durante 15 días aproximadamente, posteriormente se redujo el tamaño de partícula a trozos de 1cm de largo por 1 cm de ancho aproximadamente, con la finalidad de tener una mayor superficie de contacto con el disolvente, obteniéndose un peso final de 980 g de material vegetal seco, que fueron destinados a maceración para la obtención del extracto. En el caso del fruto, se utilizaron bellotas maduras de *Quercus agrifolia*, a las cuales se les retiró la cúpula y el pericarpio, mientras que el fruto dentro de la cascara se usó como material de partida, obteniéndose 264.7 g de material vegetal seco (Figura 8).



Figura 8. Hoja y fruto de *Quercus agrifolia*

Maceración

Mediante este proceso fueron generados extractos de hoja y fruto, para ello 450 g de hoja se colocaron en un garrafón de vidrio con 8 L de metanol, esto se mantuvo en agitación ocasional por dos semanas. Pasado ese tiempo se filtró el solvente y se eliminó a presión reducida a una temperatura aproximada de 37°C. Este proceso se realizó por triplicado obteniendo finalmente 103.5 g de extracto seco.

Siguiendo la misma metodología, para el fruto se emplearon 100 g de material vegetal seco con 600 mL de metanol y se mantuvieron en contacto por una semana. Pasado el tiempo se eliminó el solvente a presión reducida. Este proceso se realizó por triplicado obteniendo finalmente 67.8 g de extracto seco (figura 9).

Decocción

Para la generación del extracto de hoja 450 g de material vegetal seco fueron colocados en un recipiente con 5 L de agua destilada y fue llevado a ebullición por un periodo de 15 minutos. Transcurrido ese tiempo se decantó el agua y se eliminó a presión reducida, como resultado se obtuvieron 85.4 g de extracto seco.

Para el fruto se siguió el mismo procedimiento a partir de 100 g de bellota en 1 L de agua destilada, como resultado se obtuvieron 49.1 g de extracto seco (figura 10).



Figura 9. (Izquierda) Maceración de la hoja, (derecha) Maceración de la bellota.

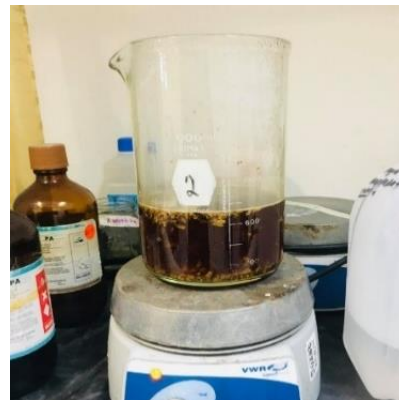


Figura 10. (Izquierda) Decocción de la hoja, (derecha) Decocción de la bellota.

5.3 Tamizaje fitoquímico mediante pruebas colorimétricas

El tamizaje fitoquímico permite realizar un análisis cualitativo de los extractos, ya que arroja información preliminar acerca de su composición química mediante la realización de ensayos rápidos y sencillos que se manifiestan como precipitación, coloración, espuma, entre otras. Estos resultados permiten la identificación de los compuestos mayoritarios presentes en los extractos.

Para la realización de estos ensayos se preparó una solución patrón de cada extracto a una concentración de 1 mg/mL en metanol para la identificación de taninos, esteroides y triterpenoides, flavonoides, carbohidratos, glucósidos antraquinónicos y cumarinas. Para la identificación de alcaloides la solución patrón (1 mg/mL) se preparó en HCl 5%, y para saponinas en agua destilada. Los diferentes métodos llevados a cabo se pueden observar en la tabla 2.

Tabla 2 Pruebas colorimétricas y métodos correspondientes al tamizaje fitoquímico

Metabolito secundario	Método
Alcaloides	Dragendorff
	Wagner
Taninos	Cloruro férrico
	Gelatina
Esteroides y triterpenoides	Lieberman-Burchard
Flavonoides	Shinoda
Carbohidratos	Benedict
Saponinas	Espuma
Glucósidos antraquinónicos	Borntrager
Cumarinas	Erllich

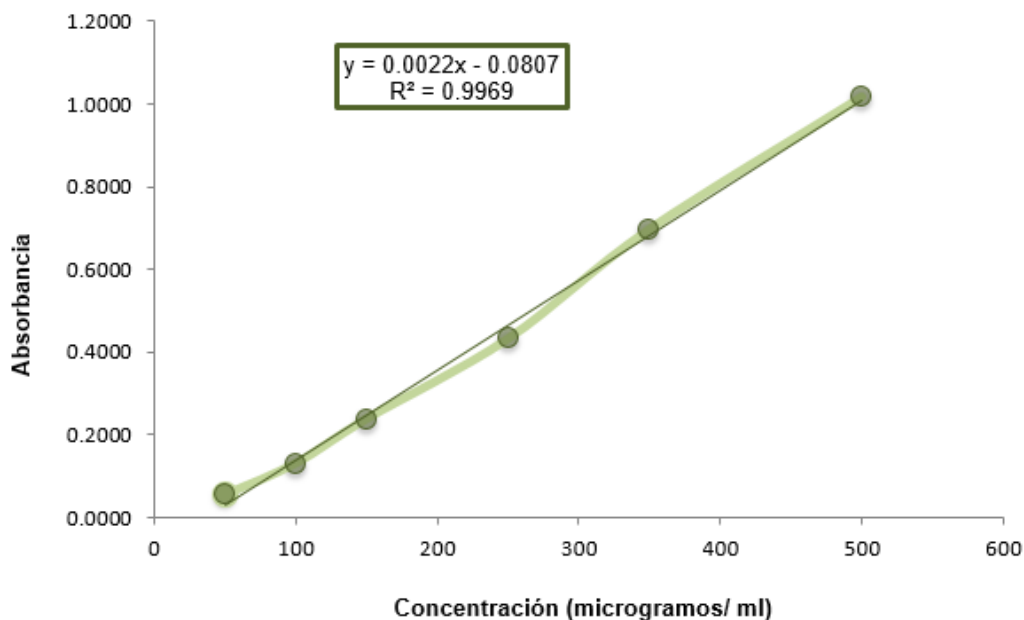
5.4 Determinación cuantitativa de compuestos polifenólicos por el método de Folin Ciocalteu

Se preparó una solución patrón de cada muestra a evaluar a una concentración de 1 mg/mL con metanol.

Para la realización del ensayo, a cada tubo se adicionaron 1500 μ L de agua destilada, 50 μ L de solución de la muestra a evaluar y 250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu, se mezclaron y dejaron reposar durante 3 minutos. Pasado el tiempo se agregó a todos los tubos 1000 μ L de carbonato de sodio al 7%, se homogeneizaron y dejaron incubando durante 2 horas en oscuridad, finalmente se midió la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm

Para la determinación del contenido de polifenoles totales se utilizó una curva de calibración con ácido gálico (Gráfica 1). Los resultados fueron expresados como microgramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de extracto (μ gEAG/100 g E)

Gráfica 1. Curva de calibración con ácido gálico



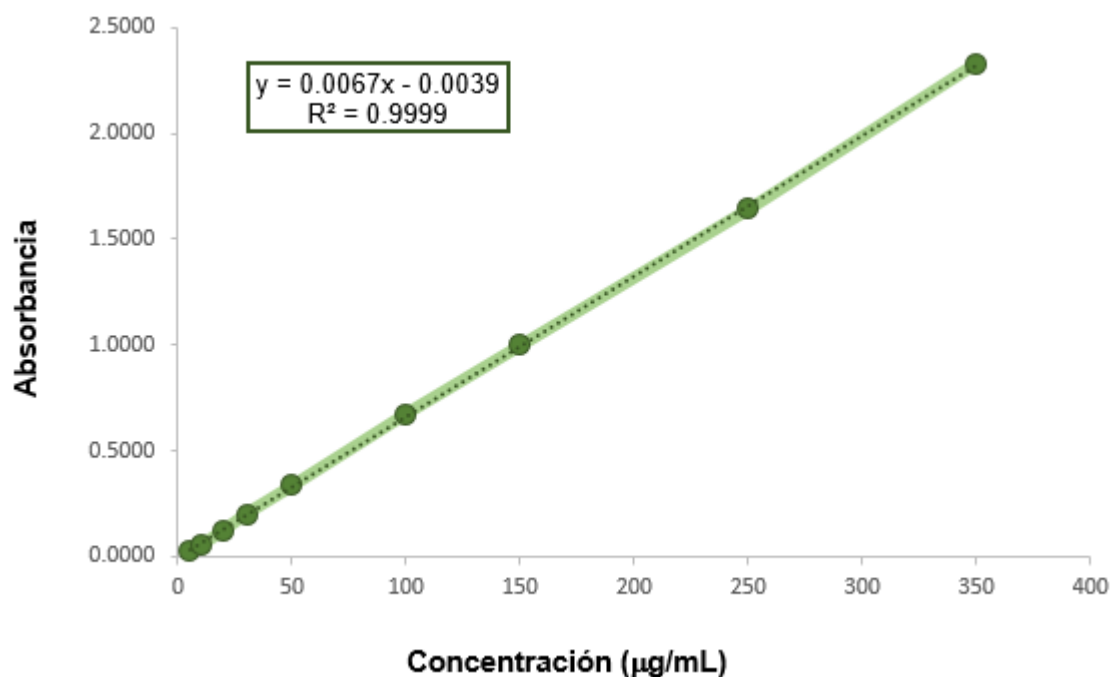
5.5 Determinación cuantitativa de flavonoides totales por el método de tricloruro de aluminio (AlCl_3).

Se preparó una solución patrón de cada muestra a evaluar a una concentración de 1 mg/mL con metanol.

Para la realización del ensayo, a cada tubo se adicionaron los siguientes reactivos: 1500 μL de metanol, 500 μL solución de la muestra a evaluar, 100 μL de AlCl_3 al 10% y 100 μL de acetato de potasio 1M, se mezclaron y finalmente se agregaron a todos los tubos 2800 μL de agua destilada, se homogeneizaron y dejaron incubando durante 30 minutos a temperatura y luz ambiente, finalmente se midió la absorbancia de las muestras en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 415 nm.

Para la determinación del contenido de flavonoides totales se utilizó una curva de calibración con quercetina (Gráfica 2). Los resultados fueron expresados como microgramos equivalentes de quercetina por cada 100 gramos de extracto ($\mu\text{gEQ}/100\text{g}$)

Gráfica 2. Curva de calibración con quercetina



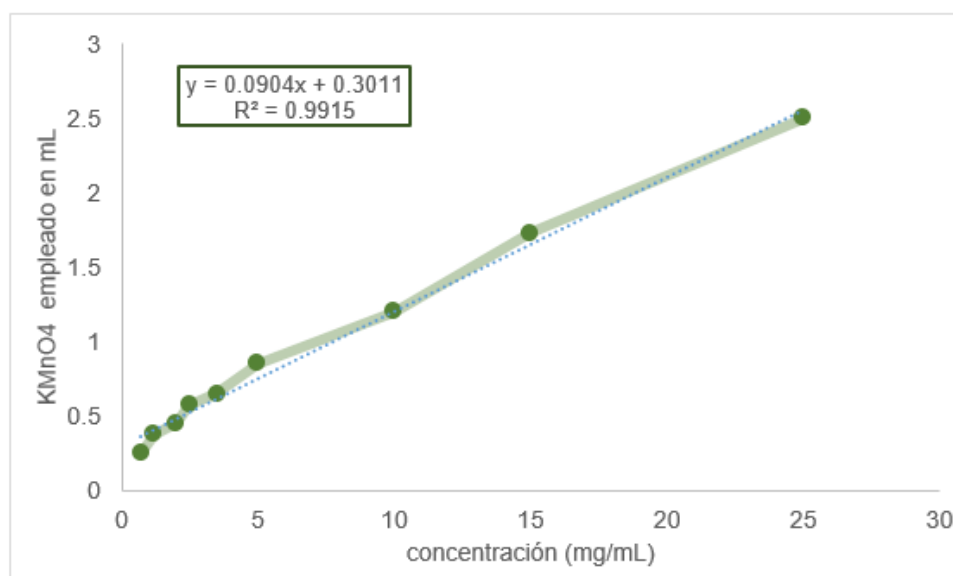
5.6 Determinación cuantitativa de compuestos de tipo tanino por el método de Lowenthal

Se preparó una solución patrón de cada muestra a evaluar a una concentración de 1 mg/mL con metanol a un volumen de 25 mL para colocar en cada matraz a evaluar.

Para la realización del ensayo, a cada matraz Erlenmeyer se adicionaron 3 mL del indicador carmín de índigo previamente preparado y 125 mL de agua destilada. Posteriormente con ayuda de una bureta se agregó permanganato de potasio hasta obtener un cambio en la coloración de un azul intenso a un amarillo. Finalmente se hizo un registro del permanganato empleado en la titulación, tomando en cuenta la equivalencia de 1 mL KMnO_4 a 4.2 mg de taninos.

Para la determinación del contenido de taninos se utilizó una curva de calibración con ácido tánico. Los resultados fueron expresados en mg/mL.

Gráfica 3. Curva de calibración con ácido tánico



5.7 Ensayos de toxicidad empleando larvas de *Artemia salina*

Eclosión de huevecillos

Previo al ensayo, se colocaron en un recipiente amplio 35 g de sal de mar disueltos en 1 L de agua destilada a un burbujeo constante empleando una bomba de aire. Posteriormente se agregaron 0.5 g de huevecillos de *Artemia salina* y se colocó una lámpara para mantener el calor e iluminación durante un periodo de 48 horas. Transcurrido el tiempo, los huevecillos eclosionaron y se pueden observar nauplios en movimiento listos para ser utilizados en el ensayo.

Montaje del experimento

Para el ensayo se prepararon soluciones patrones de cada extracto empleando agua destilada como disolvente, posteriormente se realizaron diluciones seriadas de cada solución patrón para obtener las concentraciones señaladas en la tabla 3, mismas que fueron obtenidas previamente mediante una ventana biológica para cada extracto evaluado.

Tabla 3. Concentraciones empleadas por extracto para ensayos de toxicidad

Extracto	Concentraciones utilizadas (mg/mL)				
BM	3	6	9	12	15
BA	20	25	30	35	40
HM	5	10	15	20	25
HA	10	15	20	25	35

HM: Extracto de hoja metanólico, **HA:** Extracto de hoja acuoso, **BM:** Extracto de hoja metanólico, **BA:** Extracto de hoja acuoso.

En cada recipiente se adicionó 0.5 mL de la solución a evaluar, seguido de 1mL de agua de mar conteniendo 10 nauplios de *Artemia salina*. El experimento se mantuvo por un periodo de 48 horas (con monitoreo cada 24 horas) bajo agitación constante. Cabe mencionar que cada uno de los ensayos fue realizado por triplicado, utilizando como control agua destilada.

Posterior al ensayo, se realizó un conteo de los nauplios muertos y se calculó el porcentaje de mortalidad utilizando la fórmula de Abbott.

$$\% \text{Mortalidad} = \left(1 - \frac{\text{Nauplios vivos}}{\text{Nauplios de control}} \right) \times 100$$

Se calculó la dosis letal media (DL₅₀) utilizando el método de Finney (1971) para análisis probit empleando una aplicación de MS-DOS pre programada para automatizar el cálculo.

5.8 Ensayo de actividad acaricida frente a *Tetranychus urticae*

Se utilizó el método de inmersión de hojas sugerido por Elbert *et al.*, (1996) con algunas modificaciones.

Previo al ensayo se prepararon soluciones de la muestra a evaluar a distintas concentraciones utilizando agua destilada como disolvent (véase tabla 4). Las concentraciones fueron seleccionadas realizando una ventana biológica previa al ensayo.

Tabla 4. Concentraciones empleadas por extracto para ensayos de actividad acaricida

Extracto	Concentraciones utilizadas (mg/mL)					
BM	0.5	2	4	6	8	10
BA	4	6	8	10	15	20
HM	6	8	10	12	14	20
HA	30	34	38	42	46	50

HM: Extracto de hoja metanólico, **HA:** Extracto de hoja acuoso, **BM:** Extracto de hoja metanólico, **BA:** Extracto de hoja acuoso.

Para el montaje del experimento se utilizaron cajas petri de 4 cm de diámetro por 1 cm de altura, sobre las cuales se colocó un círculo de papel filtro impregnado con la solución correspondiente a evaluar, encima fue colocado un círculo de hoja de planta de frijol con el mismo diámetro también previamente impregnada. Posteriormente en cada caja se colocaron 20 ácaros hembra de *Tetranychus urticae* sobre el círculo de hoja con ayuda de un estereoscopio, se sellaron con papel parafilm para evitar la salida de los ácaros y se incubaron a temperatura ambiente. Cada experimento fue realizado por triplicado bajo las mismas condiciones.

Una vez pasadas 24 horas, se observó la mortalidad bajo la observación en un estereoscopio, se consideraron ácaros muertos a todos aquellos que al tocarse con un pincel no mostraron movimiento.

Posterior al ensayo, se realizó un conteo de las arañas rojas muertas y se calculó el porcentaje de mortalidad utilizando la fórmula de Abbott.

$$\% \text{ Mortalidad} = \left(1 - \frac{\text{ácaros vivos}}{\text{ácaros de control}} \right) \times 100$$

Se calculó la dosis letal media (DL₅₀) utilizando el método de Finney (1971) para análisis probit empleando una aplicación de MS-DOS pre programada para automatizar el cálculo.

5.9 Experimento de actividad repelente frente a *Tetranychus urticae*

El efecto repelente de los extractos se evaluó utilizando el método de "preferencia de área" propuesta por Scheffler (1992) con algunas modificaciones.

Previo al ensayo se prepararon soluciones de la muestra a evaluar a distintas concentraciones utilizando agua destilada como disolvente (véase tabla 4). Las concentraciones fueron seleccionadas realizando una ventana biológica previa al ensayo.

Primeramente, se recortaron círculos de papel filtro de 4 cm de diámetro para después cortarse por la mitad, de tal manera que una mitad fue impregnada con la solución correspondiente a evaluar, mientras que la otra mitad fue impregnada con solvente control. Los medios discos fueron secados al aire libre durante un periodo de aproximadamente 40 minutos (hasta evaporar el disolvente por completo), fueron colocados en el centro de cajas petri y fijados con cinta adhesiva; finalmente se colocaron 20 ácaros hembra adultos de *Tetranychus urticae* en el centro del disco de papel con ayuda de un estereoscopio, se sellaron las cajas y se incubaron a temperatura ambiente. Todos los experimentos de realizaron por triplicados bajo las mismas condiciones.

El número de ácaros presentes en el medio disco control y en el medio disco impregnado con muestra se contabilizaron cada hora hasta alcanzar las 4 horas para la determinación del porcentaje de repelencia.

Posterior al ensayo, se realizó un conteo de las arañas en las distintas mitades de los discos y se calculó la concentración efectiva media (CE_{50}) utilizando el método de Finney (1971) para análisis probit empleando una aplicación de MS-DOS pre programada para automatizar el cálculo.

5.10 Evaluación de la actividad insecticida frente a *Planococcus ficus*

Previo al ensayo se prepararon diferentes soluciones seriadas de los extractos a evaluar, las concentraciones empleadas para el ensayo de actividad insecticida fueron obtenidas a partir de una ventana biológica establecida previamente para ambos extractos.

Tabla 5. Concentraciones empleadas por extracto para ensayos de actividad insecticida

Extracto	Concentraciones utilizadas (mg/mL)				
BM	4	6	8	10	15
HM	8	10	12	14	20

HM: Extracto de hoja metanólico, BM: Extracto de hoja metanólico.

Se cortaron círculos de hoja de vid de 4 cm de diámetro, posteriormente fueron impregnados con la solución de muestra correspondiente a la concentración a evaluar y fueron secados a temperatura ambiente durante un periodo de aproximadamente 40 minutos para evaporar el disolvente por completo.

Durante este tiempo, a cada caja petri se adicionó una solución de agar-agar y una vez gelificado se colocó el disco de hoja. Se colocaron 10 hembras de *Planococcus ficus* en el centro de la caja petri con ayuda de un estereoscopio, después se cubrió con tela muselina para evitar la salida de algún piojo y se incubaron en condiciones de oscuridad a temperatura ambiente. Todos los experimentos se realizaron por triplicados bajo las mismas condiciones.

Con ayuda de un estereoscopio, se contabilizó el número de hembras muertas en cada disco pasadas las 24 horas de contacto. Se consideraron muertas a todas las hembras que al ser estimuladas con un pincel no presentaban movimiento de ningún tipo. Se calculó el porcentaje de mortalidad utilizando la fórmula de Abbott.

$$\% \text{ Mortalidad} = \left(1 - \frac{\text{piojos vivos}}{\text{piojos de control}} \right) \times 100$$

Se calculó la dosis letal media (DL_{50}) utilizando el método de Finney (1971) para análisis probit empleando una aplicación de MS-DOS pre programada para automatizar el cálculo.

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Generación de extractos

Del proceso de generación de extractos de hoja y fruto por las diferentes metodologías, se obtuvieron diferentes extractos con notables diferencias en características físicas como olor, consistencia y coloración (ver Tabla 6).

Tabla 6. Generación de extractos de la parte aérea de *Quercus agrifolia*

Extracto	Material vegetal (g)	Metodología	Peso final (g)	Características
HM	450	Maceración	103.5	Extracto de coloración verde oscuro, consistencia solida con olor dulzón característico.
HA	450	Decocción	85.4	Extracto de coloración verde, consistencia pastosa y con olor dulce.
BM	100	Maceración	67.8	Extracto de color marrón, de consistencia dura y sólida, con olor amargo.
BA	100	Decocción	49.1	Extracto de color café claro, consistencia pastosa y sin olor característico.

HM: Extracto de hoja metanólico, **HA:** Extracto de hoja acuoso, **BM:** Extracto de hoja metanólico, **BA:** Extracto de hoja acuoso.

6.2 Tamizaje fitoquímico mediante pruebas colorimétricas

En el tamizaje fitoquímico realizado en este trabajo, se identificó la presencia de taninos, esteroides y triterpenoides, carbohidratos y saponinas (ver Tabla 7).

Los cuatro extractos analizados resultaron positivos a la presencia de carbohidratos, lo cual era esperado debido a la naturaleza polar de los solventes utilizados para la generación de los extractos. Respecto a las saponinas, estas presentan una estructura de tipo glucósido esteroideal o triterpénico, por lo que la presencia de la glicona favorecería su extracción en las condiciones empleadas.

Por otra parte, la presencia de compuestos polifenólicos en especies de *Quercus*, especialmente los taninos, ha sido ampliamente reportada por diversos autores de manera cualitativa y cuantitativa, por lo que la identificación mayoritaria por alguna de las dos pruebas utilizadas es congruente.

En el desarrollo de estas pruebas cualitativas no se observó en ninguno de los extractos la presencia de alcaloides, flavonoides, glucósidos antraquinónicos y cumarinas. Aunque esto no necesariamente significa que no estén presentes en el material vegetal, pueden encontrarse de manera minoritaria y no ser identificables con estos experimentos.

Tabla 7. Pruebas colorimétricas de los extractos de *Quercus agrifolia*

Metabolito secundario	Método	HM	HA	BM	BA
Taninos	Cloruro férrico	-	-	+	-
	Gelatina	-	+	+	+
Esteroides y triterpenoides	Lieberman-Burchard	+	+	-	-
Carbohidratos	Benedict	+	+	+	+
Saponinas	Espuma	+	+	+	+

*(+) Respuesta positiva para ese metabolito en el extracto. (-) respuesta negativa para ese metabolito en el extracto. * HH: Hoja metanólico, HA: Hoja acuoso, BM: Bellota metanólico, BA: Bellota acuoso

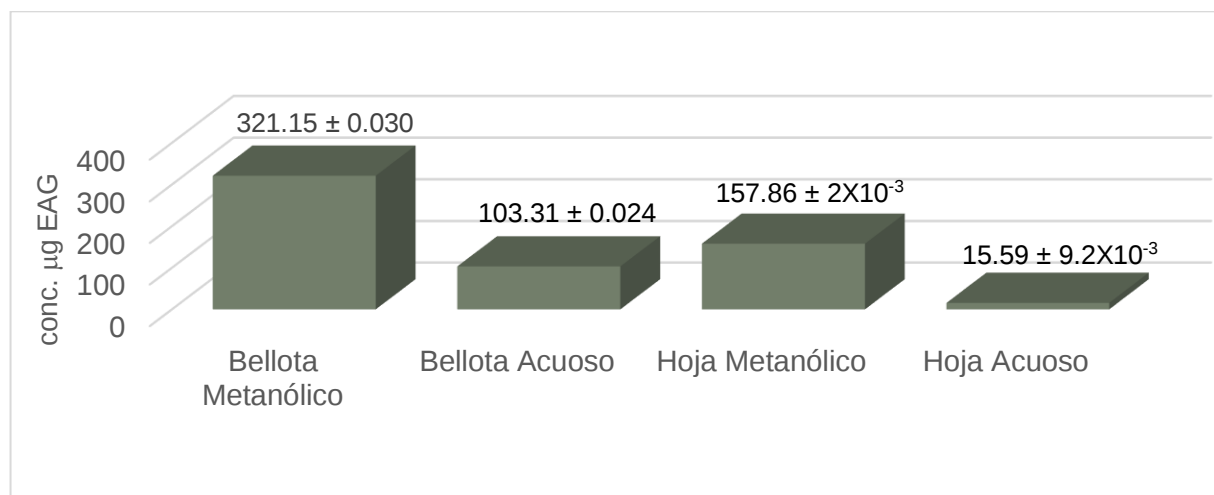
6.3 Determinación de compuestos polifenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los más numerosos y representativos grupos de metabolitos secundarios de las plantas y su relevancia radica en su participación en la fisiología y el metabolismo celular, como morfología, crecimiento, reproducción, defensa contra plagas y depredadores, entre otros. Mientras las técnicas de cuantificación de polifenoles no discriminan en la naturaleza de los mismos, la actividad intrínseca de cada uno de ellos es muy diferente.

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm.

El contenido más alto de polifenoles totales se encuentra en el extracto metanólico de la bellota con un total de 321.15 μg equivalentes de ácido gálico por 100 g de extracto seco (μg EAG), lo cual guarda correlación con las pruebas colorimétricas, donde fue el único extracto evaluado en dar positivo a ambas pruebas realizadas para la identificación de taninos, aunque de igual manera, las técnicas de cuantificación de polifenoles no discriminan en la naturaleza de los mismos. El segundo extracto con mayor contenido de polifenoles fue el metanólico de hoja con 157.86 μg EAG, seguido del acuoso de bellota (103.31 μg EAG) y finalmente el acuoso de hoja con solo 15.59 μg EAG ver Gráfica 3).

Gráfica 4. Resultados de cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

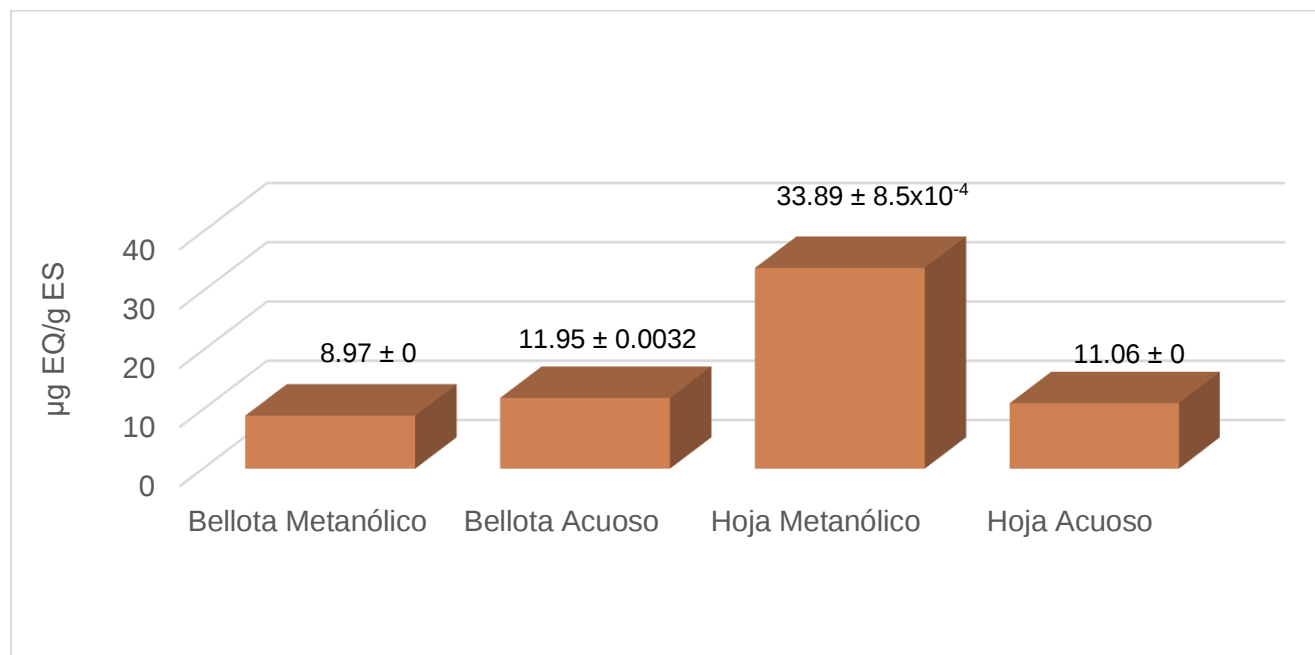


6.4 Determinación cuantitativa de flavonoides totales

Los flavonoides forman complejos estables con tricloruro de aluminio en metanol, produciendo en el análisis espectrofotométrico un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores y una intensificación de la absorción. (Mabry *et al.*, 1970). Así, es posible determinar la cantidad de flavonoides evitando la interferencia de otras sustancias fenólicas, especialmente ácidos fenólicos, que invariablemente acompañan a los flavonoides en los tejidos vegetales.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la mayor cantidad de flavonoides se observó en el extracto metanólico de la hoja con 33.89 μg equivalente de quercetina ($\mu\text{g EQ}$). Los otros tres extractos mostraron un contenido similar entre ellos con 11.95, 11.06 y 8.97 $\mu\text{g EQ}$ para el extracto acuoso de bellota, acoso de hoja y metanólico de bellota respectivamente.

Gráfica 5. Resultados de cuantificación de flavonoides totales por el método de tricloruro de aluminio.



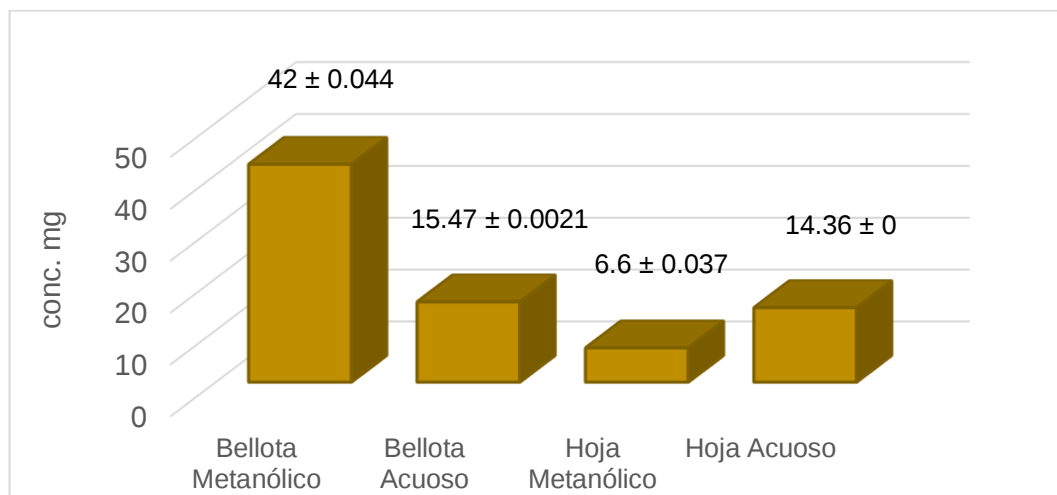
6.5 Determinación cuantitativa de compuestos de tipo tanino

El fundamento del método de Lowenthal mediante volumetría se basa en la oxidación de los taninos por KMnO_4 en presencia del indicador añil sulfonado, sirviendo a su vez como un regulador de la reacción (Álvarez *et al.* 1992).

La importancia de los ensayos para cuantificar taninos recae en su capacidad de actuar como sustancias antibióticas o como disuasores antinutricionales en relación a insectos. Por otro lado, estos metabolitos pueden presentar toxicidad correlacionada con la capacidad de acomplejar proteínas y disminuir la digestión de los alimentos, llevando a efectos negativos sobre el metabolismo endógeno del insecto, mientras el poder disuasorio se relaciona con el efecto de astringencia.

Los resultados del experimento de cuantificación de taninos para los extractos de la parte aérea de *Quercus agrifolia*, mostraron una mayor concentración de estos compuestos en el extracto metanólico de la bellota con 42 mg/mL, siendo una diferencia considerable comparado con el resto de los extractos evaluados que presentaron 15.47, 14.36 y 6.6 mg/mL para los extractos acuoso de bellota, acuoso y metanólico de hoja respectivamente. La cantidad de compuestos de tipo tanino encontrados en el extracto metanólico de la bellota, guarda congruencia con los resultados positivos para las pruebas de gelatina y cloruro férrico, que se obtuvieron en el tamizaje fitoquímico para corroborar la presencia de taninos.

Gráfica 6. Resultados de cuantificación de compuestos de tipo tanino por el método de Lowenthal



6.6 Ensayos de toxicidad empleando larvas de artemia salina

Las larvas de *Artemia* spp. se han utilizado por más de 40 años en estudios toxicológicos y eco toxicológicos, y se ha estudiado su biología y usos potenciales en diversos campos como un método práctico y económico para la determinación de bioactividad de compuestos sintéticos y productos naturales.

Dentro de los ensayos realizados, ambos extractos acuosos mostraron la dosis letal media (DL₅₀) más alta, con 32.53 y 23.03 mg/mL para bellota y hoja respectivamente, esto significa que es necesaria esa concentración para matar al 50% de los nauplios de *Artemia salina*.

Los resultados del ensayo de toxicidad guardan relación con la práctica del consumo de la bellota y la hoja en la vida cotidiana de distintas comunidades, donde incluso emplean estos materiales como remedios medicinales caseros en el tratamiento para diversas molestias e infecciones, se puede inferir entonces, que la dosis letal media alta nos indica que necesita altas concentraciones para poder ser tóxico para el consumo humano.

Por otro lado, el extracto que presentó la DL₅₀ más baja corresponde al metanólico de bellota, con una concentración de 4.22 mg/mL (ver Tabla 8).

Tabla 8. Resultados de Dosis Letal Media (DL₅₀) de los extractos evaluados.

Extracto	DL ₅₀ (mg/mL)	Límite superior	Límite inferior	DE
BM	4.22	5.92	1.98	± 0.89
BA	32.53	39.25	28.46	± 1.43
HM	10.85	13.75	8.03	± 2.40
HA	23.02	28.23	18.95	± 2.21

BM: Extracto de bellota metanólico, **BA:** Extracto de bellota acuoso, **HM:** Extracto de hoja metanólico, **HA:** Extracto de hoja acuoso

6.7 Ensayos de actividad acaricida empleando araña roja (*Tetranychus urticae*).

Todos los extractos evaluados en los ensayos de actividad acaricida contra *T. urticae* mostraron efectividad a diferentes concentraciones, entre los cuales destaca el extracto metanólico de bellota con una DL_{50} de 4.02 ± 0.15 mg/mL, esto significa que se requirió una menor concentración para tener efecto acaricida frente a la mitad de los individuos evaluados. Los extractos metanólico de hoja y acuoso de bellota presentaron resultados semejantes con una DL_{50} de 11.69 y 15.55 mg/mL respectivamente. La menor actividad acaricida fue encontrada en el extracto acuoso de la hoja, donde se necesitó una concentración de 35.82 ± 0.56 mg/mL para lograr el efecto deseado frente a las arañas evaluadas.

Tabla 9. Resultados de Dosis Letal Media (DL_{50}) de los extractos evaluados.

Extracto	DL_{50} (mg/mL)	Límite superior	Límite inferior	DE
BM	4.02	4.78	3.21	± 0.15
BA	15.55	18.23	13.55	± 0.41
HM	11.69	13.75	10.14	± 0.66
HA	35.82	37.71	33.55	± 0.56

BM: Extracto de bellota metanólico, **BA:** Extracto de bellota acuoso, **HM:** Extracto de hoja metanólico, **HA:** Extracto de hoja acuoso

6.8 Ensayos de actividad repelente empleando araña roja (*Tetranychus urticae*).

El efecto repelente de las diferentes concentraciones de los extractos frente a la araña roja fue evaluado durante cuatro horas, todos los tratamientos mostraron efecto de repelencia desde la primera hora de contacto, observando como las arañas se mantuvieron alejadas de las hojas que tenían impregnados los distintos extractos, incluso en las concentraciones más bajas.

Entre los extractos evaluados para actividad repelente, el metanólico de bellota demostró la mejor actividad con una CE_{50} de 3.26 mg/mL, seguido del metanólico de bellota, acuoso de bellota y de hoja con 9.39, 16.45 y 39.40 mg/mL respectivamente.

Dichos resultados guardan correlación con los obtenidos para los ensayos de actividad acaricida, pues los extractos también demostraron ser efectivos a bajas concentraciones frente a la plaga de *Tetranychus urticae*.

Tabla 10. Resultados de concentración efectiva media (CE_{50}) de los extractos evaluados.

Extracto	CE_{50} (mg/mL)	Límite superior	Límite inferior	DE
BM	3.26	4.14	2.36	± 0.57
BA	16.45	19.08	14.48	± 0.55
HM	9.39	10.91	7.98	± 1.07
HA	39.40	39.95	35.32	± 0.40

BM: Extracto de bellota metanólico, **BA:** Extracto de bellota acuoso, **HM:** Extracto de hoja metanólico, **HA:** Extracto de hoja acuoso

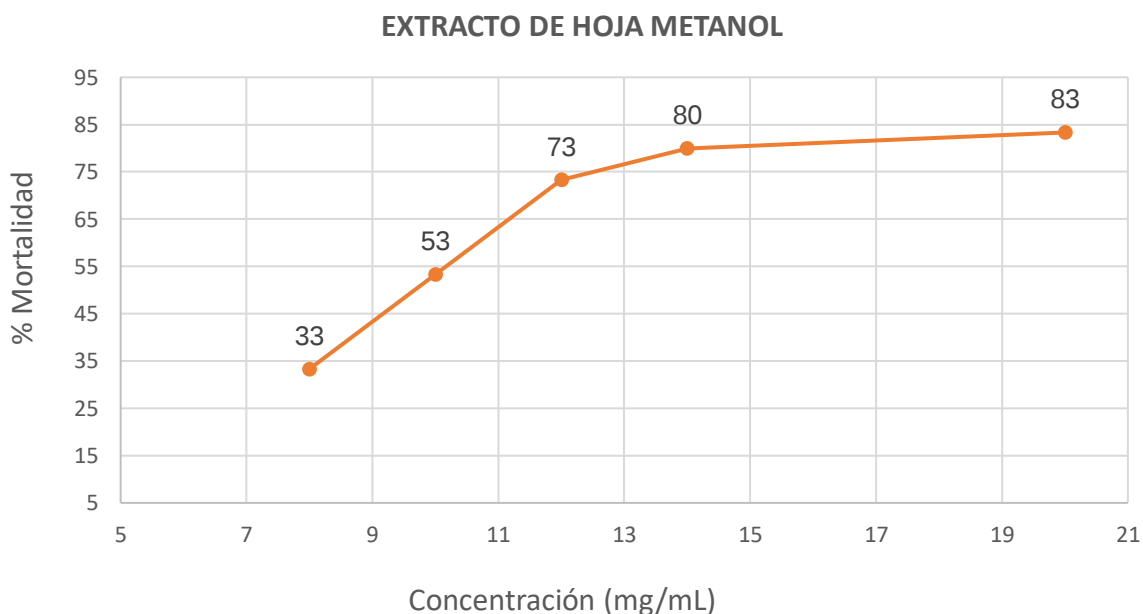
6.9 Evaluación de actividad insecticida utilizando como modelo a *Planococcus ficus*

La necesidad de encontrar plaguicidas funcionales contra la plaga del piojo harinoso de la vid recae en el nivel de daño que ejercen en las plantas donde se hospedan, las cuales se vuelven inservibles por la savia secretada de los piojos, generando grandes pérdidas de masa y de dinero en las zonas agrícolas.

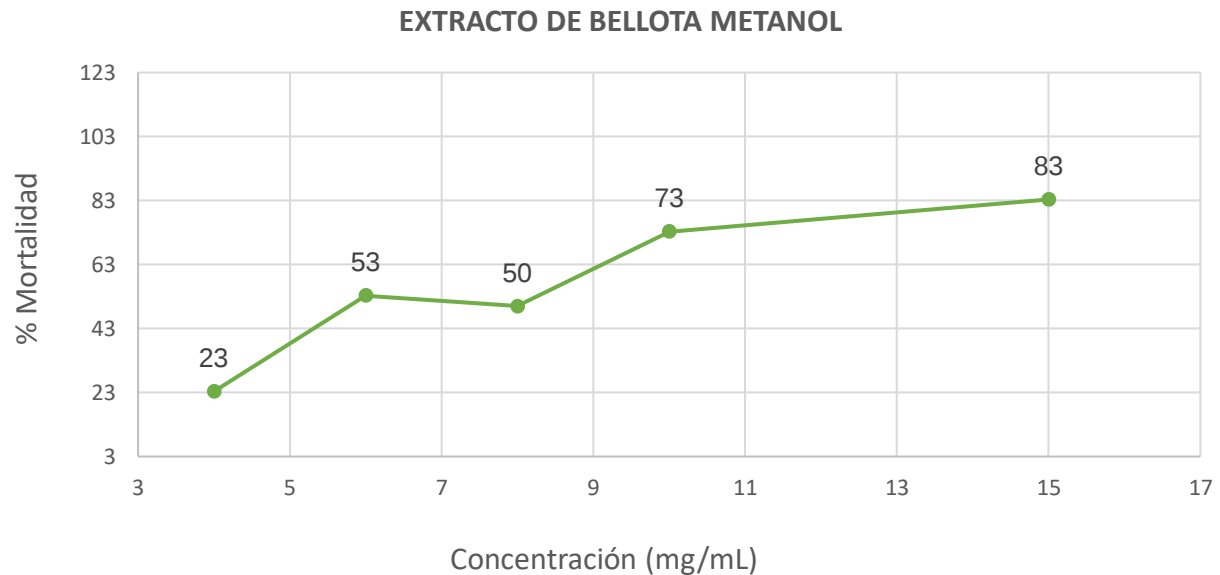
En este ensayo fueron evaluados únicamente los extractos metanólicos, ya que fueron los que mostraron una mejor actividad plaguicida en las pruebas frente a la araña roja, además de mostrar un mejor perfil polifenólico.

Es importante destacar que, analizando la mortalidad mostrada por los extractos, ambos alcanzaron un 83%, pero a diferentes concentraciones con 15 y 20 mg/mL para el de bellota y hoja respectivamente (ver gráficas 7 y 8).

Gráfica 7. Resultados de evaluación insecticida



Gráfica 8. Resultados de evaluación insecticida



El extracto de bellota demostró una mejor actividad insecticida frente al piojo harinoso de la vid, con una dosis letal media de 7.14 mg/mL, en comparación con el de hoja con una DL_{50} de 11.77 mg/mL, requiriendo de una mayor concentración para eliminar al 50% de los individuos colocados en las cajas petri.

Tabla 11. Resultados de Dosis Letal Media (DL_{50}) de los extractos evaluados.

Extracto	DL_{50} (mg/mL)	Límite superior	Límite inferior	DE
HM	11.77	13.15	10.43	1.09
BM	7.14	10.37	4.55	0.92

BM: Extracto de hoja metanólico, **HM:** Extracto de hoja metanólico.

7. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Con el análisis de resultados obtenidos en esta tesis, se establecen las siguientes conclusiones:

- En la cuantificación de polifenoles totales, el extracto metanólico de bellota presentó una mayor concentración con 321.15 μg EAG, seguido del extracto metanólico de hoja con 157.86 321.15 μg EAG.
- El contenido más alto de flavonoides totales se observó en el extracto metanólico de hoja con 33.89 μg EQ, el resto de los extractos evaluados presentaron concentraciones en un rango de 8-12 μg EQ.
- En cuanto a la concentración de taninos en las muestras, el extracto de bellota metanólico mostró una mayor concentración con 42 mg/mL, mientras que el resto de los extractos presentaron concentraciones entre los 6 – 16 mg/mL. Este resultado es congruente con lo observado en el tamiz fitoquímico, en donde el único extracto que arrojó un resultado positivo para la presencia de taninos con FeCl_3 fue el metanólico de bellota.
- De manera general ambos extractos metanólicos mostraron un mejor perfil polifenólico en las diferentes técnicas empleadas para estas cuantificaciones en comparación con los extractos acuosos, siendo particularmente el de bellota quien mostró el mejor perfil.
- En la evaluación del perfil tóxico de las muestras utilizando como modelo biológico al crustáceo *Artemia salina*, el extracto acuoso de bellota mostró un mejor resultado con una dosis letal media (DL_{50}) de 32.53 mg/mL, seguido del acuoso de hoja con 23.02 mg/mL, esto significa que es necesaria una mayor concentración de estos extractos para presentar toxicidad. A su vez esto es congruente con diversas referencias etnobotánicas que hacen referencia al consumo de extractos acuosos de bellota con fines medicinales. Por otro lado, ambos extractos metanólicos mostraron una DL_{50} más baja con un rango de 10 - 4 mg/mL.
- En el ensayo acaricida frente a *Tetranychus urticae*, el extracto metanólico de bellota mostró un mejor comportamiento frente a esta plaga, con una DL_{50} de 4.02

mg/mL en comparación con el resto de los extractos que oscilaron en un rango de 11 a 35 mg/mL, esto significa que con el extracto de la bellota se requiere de una menor concentración para tener un efecto letal sobre el 50% de los individuos. Respeto a la actividad repelente de los extractos frente a la misma plaga *T. urticae*, nuevamente el extracto alcohólico de bellota presento el mejor comportamiento con una concentración efectiva media (CL₅₀) de 3.26 mg/mL.

- En lo que refiere a la actividad insecticida de los extractos frente al piojo harinoso se la vid (*Planococcus ficus*), de los dos extractos metanólicos ensayados, el de bellota requirió una menor concentración para producir un efecto letal sobre el 50% de los individuos con 7.14 mg/mL, mientras que el de hoja presentó una DL₅₀ de 11.77 mg/mL.

8. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed M., Kondratyuk T., Pezzuto J.M., Groundwater P., Ul-Haq I., (2018). Isolation of two Penta-cyclic triterpenoids from *Quercus Dilatata* L. and evaluation of their chemo-preventive potential. *Journal of oncology research and therapy*. Vol. 167,
2. Arizaga S., Martinez-Cruz J., Salcedo-Cabrales M., Bello-González M.A., (2009) Manual de la biodiversidad de encinos Michoacanos, Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), pp 147
3. Avalos-García A., Perez-Urria E., (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*. Vol. 2 No. 3, 119-145.
4. Bensoussan N., Santamarina V., Zhurov I., Diaz M., Grbic y V. Grbic., (2016). Plant Herbivore interaction: dissection of the celular pattern of *Tetranychus urticae* feeding on the host plant. *Plant Sci*. Vol 7.
5. Cazar M.E., Villena P., Parra J., Espinoza V., Larriva G., Caldas A., (2014). Eficacia de extracto etanólico de eucalipto (*Eucalipto globulus* en el control de *Alternaria* sp. En cultivos de col y patata, Maskana, Vol. 5, No. 1, 33-41
6. Challenger A., 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México: Pasado, presente y futuro. CONABIO, México. pp 848.
7. Choque Miranda A., Berrios Espejo Y., Flores Salas J.L., Soto Gonzales H., Gonzalez Aguilera J., Argentel Martinez L., (2021). Bioplaguicidas: Mecanismos de acción biocida en insectos plaga. *Research society and development*, Vol. 10, No. 7, 2525-3409.
8. De la Paz Pérez O.C., Dávalos Sotelo R., Guerrero Cuacuil E., (2000). Aprovechamiento de la madera de encino en México. *Madera y bosques*, Vol. 6, No. 1, 3-13 DOI: 10.21829/myb.2000.611338

Duke, S.O., 1990. "Natural pesticides from plants". In: Janick, J. and J.E. Simon (Eds.). *Advances in new crops*. Timber Press. Portland. p. 511-517.
9. FAO, (2014). Growing Greener Cities in Latin America and the Caribbean. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO), Santiago, Chile.

- 10.** Graham A., (1999). The Tertiary history of the northern temperate element in the northern Latin American biota. *American Journal of Botany*, Vol. 86, No. 1, 32-38. DOI: <https://doi.org/10.2307/2656952>
- 11.** Halberstein R.A., (2005), Medicinal plants: historical and cross-cultural usage patterns. *Annals of Epidemiology*. Vol. 15, No. 9, 686-99. DOI: 10.1016/j.annepidem.2005.02.004.
- 12.** Jacobson M., (1989). Botanical pesticides: past, present and future. *American chemical society*, Vol. 387 pp. 1–10 DOI: 10.1021/bk-1989-0387.ch001
- 13.** Jacobson, M., 1989. Botanical pesticides. Past, present and future. In: Arnason, J.T., Philogéne, B.J.R. and Morand, P. (Eds.). *Insecticides of plant origin*. American Chemical Society. Washington p. 1-10.
- 14.** Li, J-Q., (1996). The origin and distribution of the family Fagaceae. *Journal of Systematics and Evolution*. *Sinica*.34, No. 4, 376-396.
- 15.** López G. P., Rodríguez A. G., Oyama K., Reyes P.C., (2013). Importancia de la diversidad genética sobre la defensa química de plantas y las comunidades de herbívoros. *Biológicas Revista de la DES Ciencias Biológico Agropecuarias Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo*. Vol. 15, No.2, 1-8.
- 16.** Luna-José A. L., Montalvo-Espinosa L., Rendón-Aguilar B., (2003). Los usos no leñosos de los encinos en México. *Boletín Sociedad botánica de México*, Vol. 72, 107-117.
- 17.** Mabry T. J., K.R. Markham y M.B. Thomas, (1970). *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer- Verlag. New York. Vol. 304, No. 9, 325-354 DOI: <https://doi.org/10.1002/ardp.19713040918>
- 18.** Medina N., (2001). Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. *Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. Vol. 59, 76–77.
- 19.** Moore, S.J. and Lenglet, A.D., 2004. “An overview of plants used as insect repellents”. In: Willcox, M., Bodeker, G. and Rasoanaivo, P. (Eds.). *Traditional medicinal plants and malaria*. CRC Press. Boca Ratón. p. 343-363.

20. Pérez M.E., Ruiz D.M., Schneider M., Autino J.C., Romanelli G., (2013). La química verde como fuente de nuevos compuestos para el control de plagas agrícolas, Revista ciencia en desarrollo, Vol. 4, No. 2, 83-91.
21. Plumb R.T., Gómez A.T., (1983). Five Southern California Oaks: identification and post fire management. United States Department of Agriculture: Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station.
22. Raven P. H., Axelrod D.I., (1974). Angiosperm biogeography and past continental movements. Annals of the Missouri botanical garden, vol. 61, No. 3, 539-673.
23. Reddall J., De Lima R., Ribeiro J., Correa C., De goes Maciel C., Youseff K., (2007). Photosynthetic response of cotton to spider mite damage: interaction with light and compensatory mechanisms. Crop Sci. Vol. 47, No. 5, 2047-2057.
24. Rodríguez I.S., Romero S., (2007). Arquitectura Foliar de Diez Especies de Encino (*Quercus*, Fagaceae) de México. Acta Botánica Mexicana, No. 81, 9-34.
25. Rzedowski J., 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 504 pp.
26. Sarwar R., Farooq U., Naz S., Riaz N., Majid S., Rauf A., Mabkhot Y., Al-Showiman S., (2018). Isolation and characterization of two new antimicrobial acids from *Quercus incana* (Bluejack Oak). Biomed Res Int. Vol. 2018.
27. Sepúlveda-Jiménez G., Porta-Ducoing H., Rocha-Sosa M., (2003). La participación de metabolitos secundarios en la defensa de plantas. Revisa mexicana de Fitopatología. Vol. 21, No. 3, 354-363.
28. Silva G., Orrego O., Hepp R., Tapia M., (2005). Búsqueda de plantas con propiedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* en maíz almacenado, pesquisa agropecuaria Brasileira, Brasilia, Vol. 40, No. 1, 11-17
29. Sohretoglu D., Kuruuzum-Uz A., Simon A., Patocs T., Dekany M., (2014). New secondary metabolites from *Quercus coccifera* L. Rec. Nat. Prod. Vol. 8, No. 4, 323-329.
30. Susana Valencia A., (2004). Diversidad del Genero *Quercus* (Fagaceae) en México, Boletín de la sociedad botánica de México, Vol. 75, 33-53. DOI: 10.17129/botsci.1692

- 31.** Taiz L., Zeiger E., (2003). Plant Physiology. Annals of Botany. Vol. 91, No. 6, 750-751.
DOI: [10.1093/aob/mcg079](https://doi.org/10.1093/aob/mcg079)
- 32.** Takhtajan A., (1969). Flowering plants: origin and dispersal. Oliver and Boyd. Edinburgh, U.K., Vol 82, No. 10, pp 310. <https://doi.org/10.1002/fedr.19720821004>
- 33.** USDA: United States Department of Agriculture. (2004). Natural resources Conservation Service. Recuperado de: <http://www.plants.usda.gov/>
- 34.** Valencia-Ortiz C., (1995). Fundamentos de fitoquímica. Editorial Trillas. México. 77-80.
- 35.** Villacencio-Nieto M.A., Perez-Escandon B.A., Gordillo Martinez A.J., (2010). Plantas tradicionalmente usadas como plaguicidas en el estado de Hidalgo, México. Polibotanica, Vol. 30, No. 30, pp 193-238.
- 36.** Zavala C.F., (1998). Observaciones sobre la distribución de encinos en México. *Polibotánica*, No. 8, pp 47-6.
- 37.** Zhou, Z., (1999). Fossils of the Fagaceae and their implications on the systematics and biogeography. *Jornal of Systematics and Evolution*. Vol. 37, No. 4, 369-385.

9. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

INSTRUMENTACIÓN

Espectroscopia uv-vis

Para las lecturas de absorbancia realizadas en los ensayos de cuantificación se utilizó un espectrofotómetro Thermo Scientific, modelo genesys 20, en celdas de cuarzo de 10 mm. Los disolventes empleados variaron en concordancia con la técnica.

REACTIVOS

Los reactivos y los disolventes empleados fueron comprados de la más alta calidad comercial y usados sin purificaciones previas.