



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN  
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS  
CAMPUS MONTECILLO  
BOTÁNICA**

**ALCALOIDES DE PEMOCHE (*Erythrina herbacea* L.)  
COMO LARVICIDAS CONTRA EL MOSQUITO DE  
LA FIEBRE AMARILLA (*Aedes aegypti* L.)**

**SANDRA SALAZAR AGUILAR**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2011**

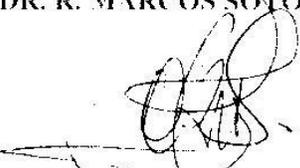
La presente tesis titulada: **ALCALOIDES DE PEMOCHE (*Erythrina herbacea* L.)  
COMO LARVICIDAS CONTRA EL MOSQUITO DE LA FIEBRE AMARILLA  
(*Aedes aegypti* L.)**, realizada por la alumna: **SANDRA SALAZAR AGUILAR**, bajo la  
dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como  
requisito parcial para poder obtener el grado de:

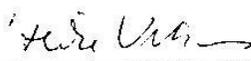
MAESTRO EN CIENCIAS

BOTÁNICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:   
DR. R. MARCOS SOTO HERNÁNDEZ

ASESOR:   
DR. CESÁREO RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ

ASESORA:   
DRA. HEIKE VIBRANS LINDEMANN

ASESORA:   
M. EN C. MARÍA EUGENIA GARÍN AGUILAR

Montecillo, Texcoco, Estado de México, abril del 2011

# ALCALOIDES DE PEMOCHE (*Erythrina herbacea* L.) COMO LARVICIDAS CONTRA EL MOSQUITO DE LA FIEBRE AMARILLA (*Aedes aegypti* L.)

Sandra Salazar Aguilar, M. C  
Colegio de Postgraduados, 2011

El mosquito transmisor de la fiebre amarilla, *A. aegypti*, también es vector del dengue, enfermedad con importancia a nivel mundial por la problemática socioeconómica provocada en las epidemias. En México los estados considerados económicamente importantes, son áreas potenciales la transmisión de esta enfermedad. Por lo que la búsqueda de sustancias para el control de este organismo es importante, ya que comienza a volverse resistente a insecticidas organosintéticos. Así en el presente estudio se realizaron pruebas con extractos de pemoche *Erythrina herbacea*, para encontrar posibles sustancias que puedan utilizarse para este fin. Se obtuvieron de las semillas de esta especie, los extractos crudos metanólicos: fracción de alcaloides libres (FAL) y fracción de alcaloides liberados (FAH) y alcaloide puro, el cual, por medio de Resonancia Magnética Nuclear se identificó como erisodina y se aplicaron a larvas del cuarto instar de *A. aegypti*, para los extractos crudos usaron seis tratamientos (3570, 2000, 1000, 500, 250 y 50 mg L<sup>-1</sup>) y para erisodina siete (500, 150, 50, 15, 5, 1.5 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>). El registro de mortalidad de larvas en los extractos alcaloideos se realizó a las 24 h después, en tanto que en erisodina se consignó a las 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la aplicación. Obteniendo que la FAL y FAH, en cantidades de 0.13% y 0.14% respectivamente, son tóxicos a larvas, con CL<sub>50</sub> de 3360 y 1212 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, a las 24 h; el alcaloide erisodina obtenido en cantidad de 0.008% también fue efectivo contra larvas de este mosquito; con CL<sub>50</sub> de 398 mg L<sup>-1</sup> alas 24 h; toxicidad que fue no constante a través del tiempo. El TL<sub>50</sub> de erisodina a 150 mg L<sup>-1</sup> es de 72.24 h. El alcaloide erisodina es más tóxico que las fracciones alcaloideas a las 24h; sin embargo, el uso de FAH, la fracción más toxica, es una mejor alternativa sustentable.

**PALABRAS CLAVE.** *Erythrina herbacea*, *Aedes aegypti*, toxicidad de alcaloides, actividad larvicida, alcaloide diénico.

# ALKALOIDS PEMOCHE (*Erythrina herbacea* L.) AS LARVICIDE AGAINST THE YELLOW FEVER MOSQUITO (*Aedes aegypti* L.)

Sandra Salazar Aguilar, M. C.  
Colegio de Postgraduados, 2011

The transmitter mosquito of the yellow fever, *A. aegypti*, also is vector of dengue, disease with importance at world-wide level by the socioeconomic problematic about in the epidemics. In Mexico the considered states economically important, are potential areas the transmission of this disease. Reason why the search of substances for the control of this organism is important, then it begins to become resistant to organosintéticos insecticides. Therefore in the present study tests with extracts of pemoche *Erythrina herbacea* were realised, to find possible substances that can be used for this. They were obtained from the seeds of this species, the methanolic crude extracts: fraction of free alkaloids (FAL) and fraction of liberated alkaloids (FAH) and pure alkaloid, which, by means of Nuclear Magnetic Resonance was identified as erysodine and they were applied to larvae of the quarter to instar of *A. aegypti*, for the crude extracts used six treatments (3570, 2000, 1000, 500, 250 and 50 mg L<sup>-1</sup>) and for erysodine seven (500, 150, 50, 15, 5, 1,5 and 0,5 mg L<sup>-1</sup>). The registry of mortality of larvae in the alcaloideos extracts was realised 24 h later, to erisodina it were registered 24, 48, 72, 96 and 120 h after the application. Obtaining that FAL and FAH, in amounts of 0,13% and 0,14% respectively, are toxic to larvae, with CL<sub>50</sub> of 3360 and 1212 mg L<sup>-1</sup>, respectively, to 24 h; the obtained erisodyne alkaloid in amount of 0,008% also was effective against larvae of this mosquito; with CL<sub>50</sub> of 398 mg L<sup>-1</sup> to 24 h; toxicity that was nonconstant through time. The TL<sub>50</sub> of erysodine to 150 mg L<sup>-1</sup> is of 72.24 h. The erysodine alkaloid is more toxic than the alcaloideas fractions to 24h; nevertheless, the use of FAH, the most toxic fraction, are one better viable alternative.

**KEY WORDS:** *Erythrina herbacea*, *Aedes aegypti*, toxicity of alkaloids, larvicida activity, dienic alkaloid.

## **AGRADECIMIENTOS**

*A DIOS por permitirme estar aquí y ahora.*

*A CONACyT, por la beca otorgada para la realización de este proyecto de investigación.*

*En primera instancia quiero agradecer a mi Consejero Dr. R. Marcos Soto Hernández y Asesores Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández, Dra. Heike Vibrans Lindemann y la M. en C. María Eugenia Garín Aguilar por su apoyo, asesoramiento, ayuda, consejo, dedicación, enseñanza, orientación y paciencia brindados a la presente investigación.*

*A la Dra. Maribel Pacheco, M. en C. Rubén San Migue y al, Sr. Domingo González y por el apoyo brindado en la fase de laboratorio.*

*Al Dr. Hussein Sánchez Arroyo, C. Óscar Moreno Cerna y C. Óscar Arnoldo Vega Ortiz encargados del Insectario de Entomología del Colegio de Postgraduados, por el apoyo y asesoría brindado en la cría del mosquito y aplicación de tratamientos.*

*Al Dr. Gustavo Valencia del Toro por su asesoría en la realización del análisis Probit.*

*A los Doctores Edith Estrada y Armando Equihua, por alentarme a dar el primer paso de esta etapa de mi vida, por todo el apoyo brindado, sus consejos y compañía, muchas gracias.*

*Por otra parte quiero agradecer a mis amigos:*

*Susanita Ramírez, sin ti no hubiera finalizado este reto, gracias por siempre estar ahí, por tu apoyo incondicional y brindarme tu mano en los momentos más difíciles.*

*A Claudia de la Rosa y Abraham Camacho, por los momentos inolvidables vivimos en nuestra formación académica.*

*A Gabriel García, por esas pláticas constructivas, consejos y observaciones brindados en el proceso de este trabajo.*

*A Pati Chaires, gracias amiga por esa disponibilidad y confianza.*

*A Agustín Segundo gracias por tus enseñanzas y consejos amigo.*

*Sandra Salazar Aguilar*

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo lo dedico a María Eugenia Garín Aguilar, por el gran apoyo brindado en todos los aspectos.*

*A Susana Ramírez, por ser la hermana que el destino puso en mi camino.*

*A Jacqueline Gómez, por caminar junto a mí en esta etapa de mi vida.*

*A Rodolfo Pérez y Beatriz Alvarado, por todo el apoyo y confianza brindados.*

*A mi Familia; mi Madre Taide Aguilar, mis hermanos Genaro, Fernando, María Luisa y Lourdes y mis sobrinos Ricardo, Armando, Noemí, María Fernanda, Sebastián y Alejandro, gracias por ser parte importante en mi vida.*

*Sandra Salazar Aguilar*

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>ii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	<b>x</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>3</b>
2.1. Insecticidas vegetales.....	3
2.2. Género <i>Erythrina</i> .....	4
2.2.1. Usos.....	5
2.2.2. Alcaloides.....	7
2.2.3. Pemoche <i>E. herbacea</i> .....	10
2.3. Mosquito transmisor de la fiebre amarilla <i>A. aegypti</i> .....	13
2.3.1. Biología.....	14
2.3.2. Control.....	16
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>18</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
4.1. Objetivo general.....	19
4.2. Objetivos particulares.....	19
<b>5. MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b>20</b>
5.1. Colecta de plantas y Trabajo fitoquímico.....	20
5.1.1. Material vegetal.....	20
5.1.2. Extractos crudos.....	20

5.1.3. Alcaloides puros.....	22
5.2. Evaluación de la toxicidad. ....	23
5.2.1. Cría del insecto.....	23
5.2.2. Bioensayos con las fracciones alcaloideas y alcaloide puro. ....	24
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
6.1 Rendimiento y mortalidad de las fracciones alcaloideas. ....	25
6.1.1 Rendimiento de las fracciones alcaloideas.....	25
6.1.2 Mortalidad de las fracciones alcaloideas.....	25
6.2. Características, rendimiento y mortalidad del alcaloide puro. ....	29
6.2.1. Características y rendimiento del alcaloide.....	29
6.2.2. Mortalidad que ocasiona el alcaloide erisodina. ....	31
6.2.3. Tiempo letal medio a 150 mg L <sup>-1</sup> . ....	37
6.3. Toxicidad de fracciones alcaloideas y erisodina. ....	38
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>40</b>
<b>8. LITERATURA CITADA. ....</b>	<b>41</b>
<b>9. ANEXOS. ....</b>	<b>48</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Título	Página.
1	Esqueleto eritrinano. -----	8
2	Alcaloides alquénicos; a) Estructura general; b) dihidroerisodina y c) dihidroerisovina. -----	9
3	Alcaloides diénicos; a) estructura general; b) erisodina y c) erisovina.-----	9
4	Alcaloides lactónicos; a) $\alpha$ -eritroidina y b) $\beta$ -eritroidina - -----	10
5	<i>Erythrina herbacea</i> ; a) planta completa; b) hojas; c) inflorescencia y d) frutos y semillas. -----	12
6	Ciclo biológico de <i>A aegypti</i> . -----	14
7	Espectro del alcaloide puro erisodina con RMN- $H^1$ . -----	30

## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> , 24 h después de la aplicación de la FAL.-----	26
2	Concentración y límites fiduciales de la FAL que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> .-----	26
3	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar del mosquito <i>Aedes aegypti</i> , 24 h después de la aplicación de la FAH. -----	27
4	Concentración y límites fiduciales de la FAH que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> .-----	28
5	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 24 h de la aplicación de erisodina. -----	31
6	Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan el 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 24 h después de su aplicación. -----	31
7	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 48 h de la aplicación de erisodina. -----	32
8	Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 48 h después de su aplicación. -----	32
9	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 72 h de la aplicación de erisodina. -----	33

10	Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95 % de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 72 h después de su aplicación. -----	33
11	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 96 h de aplicación de erisodina. -----	34
12	Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 96 h después de su aplicación. -----	34
13	Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 120 h de la aplicación de erisodina. -----	35
14	Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95 % de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> a las 120 h de su aplicación. -----	35
15	Tiempo letal medio y límites fiduciales de la concentración de 150 mg L <sup>-1</sup> de erisodina, que ocasionó el 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de <i>Aedes aegypti</i> .-----	38
16	Datos de <i>E. herbacea</i> obtenidos del Herbario Nacional del Instituto Politécnico Nacional (ENBC) y Herbario MEXU Instituto de Biología. UNAM. -----	48

## 1. INTRODUCCIÓN.

Diferentes familias botánicas como: Asteraceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Meliaceae, Simaroubaceae y Solanaceae, (Silva *et al.*, 2002), contienen metabolitos secundarios que se consideran sustancias de desecho. Pero, se ha observado que son importantes en la defensa contra organismos herbívoros (Mareggiani, 2001) y otras interacciones con los demás organismos. La distribución de los metabolitos secundarios varía dentro de los vegetales y tienen actividad biológica en distintos organismos (Harbone, 1993) como: atrayentes, insectistáticos, inhibidores del crecimiento y de la ingestión, insecticidas, y repelentes; su estructura química es variada y pueden mencionarse los alcaloides, compuestos azufrados, fenólicos, y terpenoides, entre otros (Rosenthal y Berenbaum, 1991).

En la familia Fabaceae se encuentra el género *Erythrina* con especies que contienen principalmente alcaloides, algunas como *E. flabelliformis*, *E. fusca*, *E. latissima*, *E. senegalensis*, *E. variegata* (Grainge y Ahmed 1988) se usan para el control de insectos plaga de importancia agrícola; otras, como *E. americana* (García-Mateos *et al.*, 2004) y *E. mulungu* (De Omena *et al.*, 2007), se utilizan contra insectos de importancia médica, como los mosquitos *Culex quinquefasciatus* y *Aedes aegypti* respectivamente; pertenecientes a la familia Culicidae (Eldridge, 2005).

*A. aegypti* es vector del dengue y de la fiebre amarilla; por este motivo, tiene importancia a nivel mundial en países tropicales. Además se ha registrado resistencia a insecticidas sintéticos utilizados para su control, debido al empleo excesivo, provocando a su vez, contaminación del medio y afecciones a la salud del ser humano (Ravi *et al.*, 2006), de ahí que, obtener nuevos

compuestos para el control de este mosquito es importante tanto para el sector salud como para el aspecto ambiental y económico.

*Erythrina herbacea*, localizada en el estado de Veracruz, México, es tóxica para ganado vacuno, las semillas, corteza y hojas les afecta el sistema nervioso, provoca hipotensión arterial (Avendaño y Flores, 1999). En San Luis Potosí las semillas de esta especie se usan como veneno para ratas y perros (Standley, 1926). Pero aún no se ha explorado su posible toxicidad en insectos. Este estudio tiene los objetivos de obtener los extractos crudos y alcaloides puros de las semillas y evaluar la actividad insecticida de diferentes concentraciones por medio de bioensayos con larvas del cuarto instar de *A. aegypti*.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. Insecticidas vegetales.

En los años 40 insecticidas organosintéticos, como el DDT, paratión, aldicarb, malatión y dimetoato, entre otros, desplazaron a los de origen vegetal por su eficiencia y bajo costo, sin embargo, su uso irracional provocó contaminación al medio, plagas secundarias y resistencia a los insecticidas por lo que se recurre nuevamente a insecticidas de origen vegetal para el manejo de plagas (Silva *et al.*, 2002; Ravi *et al.*, 2006).

Los productos naturales que actúan como insecticidas pueden ser más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con enemigos naturales y desarrollan resistencia más lentamente; también es posible que se degraden más rápido comparados con insecticidas sintéticos. Algunos tienen propiedad más bien insectistática y su acción es lenta (Silva *et al.*, 2002).

Así se ha usado nuevamente la rotenona (*Lonchocarpus* spp., Fabaceae), riania (*Ryania speciosa*, Flacourtiaceae), tabaco (*Nicotiana tabacum*, Solanaceae), piretro (*Tanacetum cinerariaefolium*, Compositae), nim (*Azadirachta indica*; Meliaceae), cuasia (*Quassia amara*, Simaroubaceae) e higuierilla (*Ricinus communis*, Euphorbiaceae) (Silva *et al.*, 2002). Sin embargo estos se han utilizado principalmente en el campo agrícola y una cantidad limitada se han usado como larvicidas o adulticidas, en programas de salud pública como control de mosquitos vectores (OMS, 1992; Hemingway y Ranson, 2005). La Organización Mundial de la Salud (OMS) (1982) sugiere realizar investigaciones para la búsqueda de sustancias para controlar insectos vectores. En este sentido el género *Erythrina* (Fabaceae) es una fuente importante de compuestos para este

fin, ya que se han detectado compuestos bioactivos en diferentes especies (García-Mateos et al., 2000a).

## 2.2. Género *Erythrina*.

El género consta de 115 especies de árboles, arbustos y hierbas con semillas rojas e inflorescencias generalmente rojas; se distribuyen principalmente en las zonas tropicales y subtropicales del planeta; 12 especies en Asia, 31 en el sur de África y casi 70 en América; de éstas, 27 especies se encuentran en México, y están distribuidas en los Estados de Chiapas, Guerrero, México, Morelos, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tabasco, Veracruz y en el Distrito Federal (Musalem, 1992; Austin, 2004; Pino-Rodríguez *et al.*, 2004).

Este género se ha estudiado desde diferentes puntos de vista, desde estudios etnomédicos o químicos hasta culinarios u ornamentales. Ellos se relacionan con su contenido químico: saponinas, flavonoides, isoflavonoides, alcaloides, inhibidores de tripsina o hemaglutininas, son algunos de los que caracterizan al género en diferentes partes de las plantas.

La corteza, semillas y flores se han investigado intensamente para esta clase de compuestos y son los alcaloides e isoflavonoides que han recibido atención especial debido a su actividad biológica como relajantes o agentes antimicrobianos.

Estos compuestos le han proporcionado particularidades a este género, lo que ha permitido que sea una fuente importante de especies usadas en medicina tradicional; en Argentina, Brasil, Guinea, Indonesia, Perú, Tailandia, Ruanda y Senegal (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004); aunque en México y en algunos países de América también se les dan otros usos.

### 2.2.1. Usos.

Los usos de las especies de *Erythrina* son diversos: alimenticio, agroforestal, artesanal, ornamental medicinal, y tóxico.

En México, en los Estados de Chihuahua, Oaxaca y Tabasco y en países como El Salvador y Guatemala las flores de *E. americana* se guisan con huevo y además se añaden a las ensaladas (Austin, 2004); sin embargo cuando se consume en gran cantidad produce sueño profundo (Centurión *et al.*, 2003). Las semillas destoxificadas de *E. americana* y *E. breviflora* contienen alto contenido de proteínas y lípidos de buena calidad, que pueden ser utilizadas como alimento para animales (Sotelo *et al.*, 1993).

Respecto al uso agroforestal; en Veracruz *E. americana*, *E. berteroana*, *E. flabelliformis*, *E. folkersii* y *E. herbacea* se cultivan como cerca viva (Avendaño y Acosta, 2000). En Tabasco se encuentra a *E. americana* en plantaciones de cacao *Theobroma cacao* (Malvaceae) como árbol de sombra y en ocasiones como tutor o soporte para plantas trepadoras como el chayote *Sechium edule* (Cucurbitaceae) o melocotón *Sicana odorifera* (Cucurbitaceae) (Centurión *et al.*, 2003).

En México las semillas de *E. americana* se usan para elaborar collares y rosarios, en Puebla se elaboran aretes y pulseras (Austin, 2004). En Tabasco la corola y el cáliz se usan para hacer juguetes para silbar (Centurión *et al.*, 2003).

En relación al uso ornamental, en Nuevo León se cultivan las especies *E. americana*, *E. crista-galli*, *E. flabelliformis* y *E. herbacea*, siendo la primera la más común (Estrada *et al.*, 2004). La última especie se usa con este fin en Norteamérica (Elias, 1980).

Otro de sus usos es el medicinal. La semilla molida de *E. americana* cura el dolor de muelas, la infusión de sus hojas alivia molestias de la erisipela, esta infusión también es usada como antipirética, antivaricosa, hipnótica y sedante. Controla convulsiones tónico-clónicas, y facilita el trabajo de la cirugía (Brito, 2005), también es antimalárica en el Estado de Guerrero (Rivera, 1943<sup>1</sup> citado por García-Mateos *et al.*, 2001). En Brasil se usa la corteza, hoja, raíz maderosa y tallo de *E. mulungu* como tratamiento para la bronquitis y contra la inflamación (Balabach, 1963<sup>2</sup> citado por De Omena, 2007). La raíz y la semilla hervida de *E. herbacea*, se utiliza como té para el mal de orín (Información obtenida de ejemplares de herbario, Anexo 9.1). Los alcaloides de *E. americana* se han estudiado también, en el área farmacológica (Garín-Aguilar *et al.*, 2000; García, 2005).

En Cuba a *E. berteroana* y *E. cubensis* se les atribuye propiedades astringentes, diuréticas febrífugas, hipnótico-sedantes y purgantes. *E. cubensis* se emplea por sus propiedades sudoríficas; las flores se usan en infecciones respiratorias y el jugo de los tallos se aplica en las picaduras de alacranes (Pino-Rodríguez *et al.*, 2004). En la corteza de *E. subumbrans* se encuentran alcaloides con actividad antiplasmódica, antimicobacterial y citotóxica (Rukachaisirikul *et al.*, 2008). *E. crista-galli* se usa como cicatrizante en Argentina (Zampini *et al.*, 2007).

Por su toxicidad, en el estado de Veracruz las hojas de *E. americana* y *E. herbacea* se reportan como veneno para el ganado vacuno; paralizan el músculo esquelético, inhiben la transmisión de impulsos nerviosos y causan hipotensión arterial (Avendaño y Flores, 1999). En

---

<sup>1</sup> Rivera, I. 1943. Algunas plantas medicinales de Izúcar de Matamoros y pueblos anexos. Anales Instituto de Biología Universidad Nacional de México 14:37-67.

<sup>2</sup> Balabach, A. 1963. As Plantas Curam. A verdade Presente. 16th ed. Sao Paulo, Brasil.

San Luis Potosí utilizan las semillas de *E. herbacea* como veneno para ratas y perros, aunque no se describe con detalle como se emplea (Standley, 1926; Austin, 2004).

Los extractos obtenidos de semillas de *E. americana* son tóxicos a los crustáceos como: *Artemia salina* (Artemiidae) y *Daphnia magna* (Daphniidae), y al nemátodo *Panagrellus redivivus* (Panagrolaimidae) (García-Mateos *et al.*, 2000b). Las flores, semillas y vainas de *E. latissima*, tienen efecto antialimentario en *Spodoptera littoralis* (Noctuidae) (Cornelius *et al.*, 2009); las raíces y semillas de *E. flabelliformis* tienen efecto antialimentario en *Callosobruchus maculatus* (Chrysomelidae); las semillas de *E. fusca* son insecticida en *Periplaneta americana* (Blattidae); las hojas y semillas de *E. senegalensis* se usan como trampa de escarabajos spp; el látex y las hojas de *E. variegata* inhiben el crecimiento en *Dysdercus cingulatus* (Pyrrhocoridae) (Grainge y Ahmed, 1988). Las semillas de *E. americana* tienen efecto larvicida en el mosquito *C. quinquefasciatus* (Culicidae) (García-Mateos *et al.*, 2004). La corteza del vástago *E. mulungu* es larvicida en *A. aegypti* (Culicidae) (De Omena, 2007).

### 2.2.2. Alcaloides.

Los alcaloides son sustancias orgánicas de origen natural, nitrogenadas, con carácter más o menos básico y de distribución restringida, a menudo tienen propiedades farmacológicas marcadas a dosis bajas (Soto, 2007). Se localizan en tejidos periféricos de las plantas y sirven como repelentes o atrayentes de insectos y como agentes venenosos que protegen contra animales herbívoros debido a su sabor amargo (Rosenthal y Berenbaum, 1991; Valencia, 1995).

En las especies de *Erythrina*, los alcaloides se pueden encontrar en corteza, flores, hojas, semillas principalmente, y en tallos (Soto, 2007).

Estos compuestos en su estructura química poseen un esqueleto base denominado eritrinano que es una espiroamina tetracíclica, cada anillo determinado por las letras A, B, C Y D, este esqueleto puede presentar unión cis trans en los anillos A/B y los sitios mas frecuentes de oxigenación son 3,15 y 16, como se muestra en la Figura 1 (Marcano y Hasegawa, 2002).

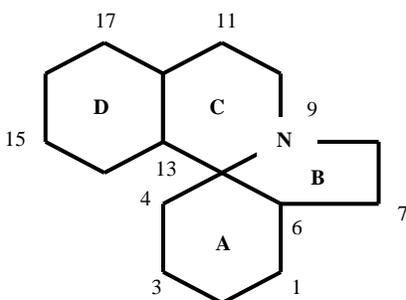


Figura 1. Esqueleto eritriniano.

Se clasifican, de acuerdo con su estructura, en tres grupos: alquénicos, diénicos, y lactónicos (Marcano y Hasegawa, 2002).

Los alcaloides alquénicos tienen una insaturación en el anillo A y el anillo D aromático (Figura 2).

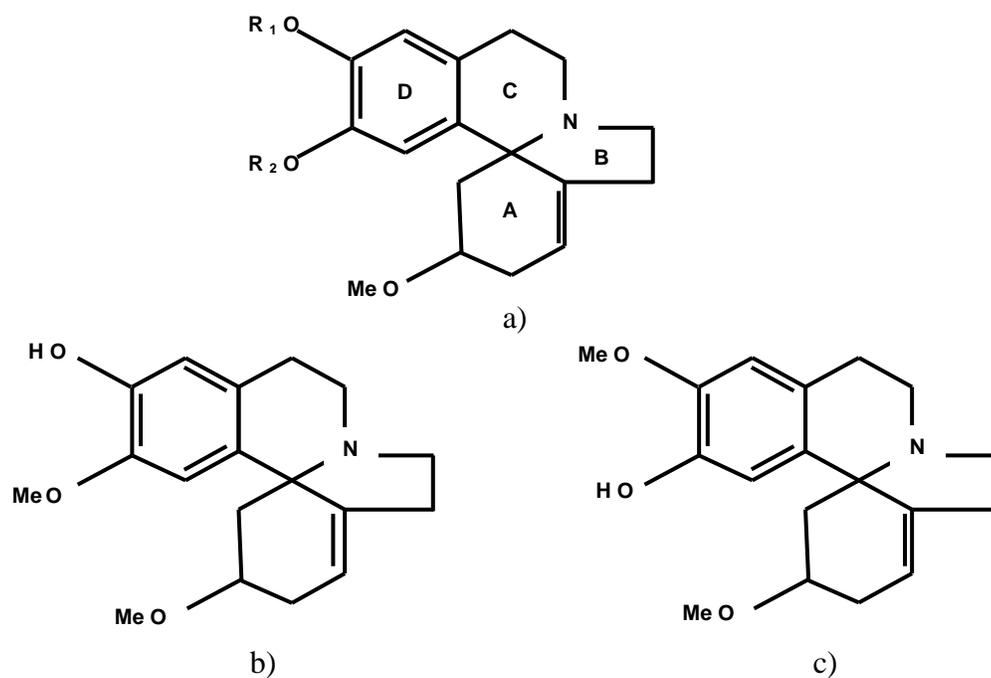


Figura 2. Alcaloides alquénicos ; a) Estructura general; b) dihidroerisodina y c) dihidroerisovina.

Los diénicos contienen un sistema dieno conjugado en los anillos A y B y el anillo D aromático (Figura 3).

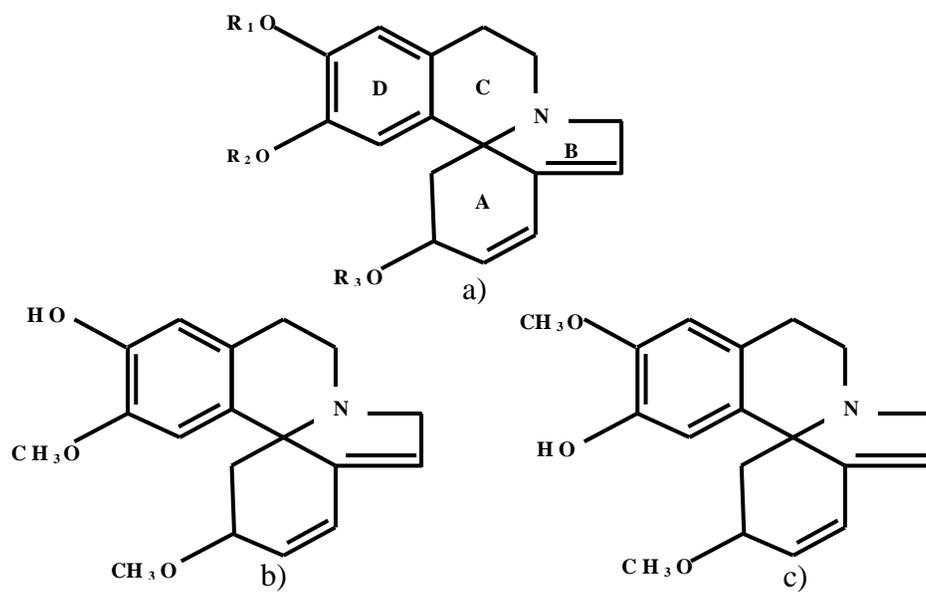


Figura 3. Alcaloides diénicos; a) estructura general; b) erisodina y c) erisovina.

Los lactónicos tienen, como su nombre lo indica, una lactona insaturada en lugar del anillo aromático D, proveniente de la oxidación degradativa del anillo aromático. (Figura 4).

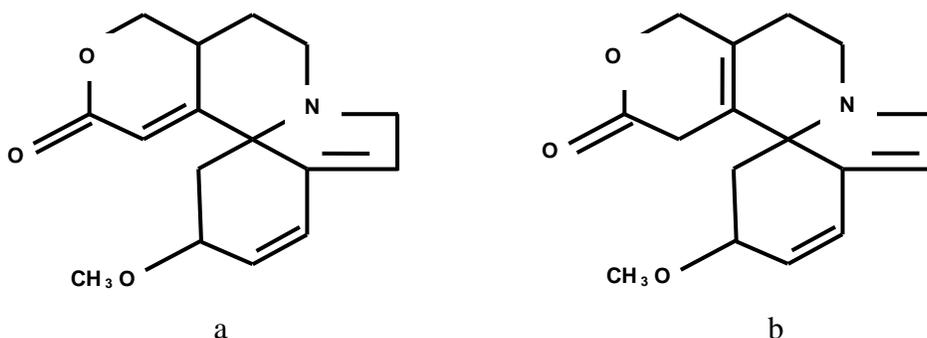


Figura 4. Alcaloides lactónicos; a)  $\alpha$ -eritroidina y b)  $\beta$ -eritroidina

En base a esta clasificación diferentes autores han identificado los alcaloides que se encuentran en las semillas de 22 especies de este género (Abdullah *et al* 1979; Chawla *et al.*, 1985; Grainge y Ahmed, 1988; Garín-Aguilar *et al.*, 2005), siendo los diénicos (erisodina, erisopina y erisovina) los que se encuentran en común entre las especies.

### 2.2.3. Pemoche *E. herbacea*.

Es un arbusto o árbol pequeño, con tallos erectos armados con espinas rectas o ligeramente curvas, y hojas trifoliadas (Figura 5a). Hojas alternas, pinnado trifoliadas, pecíolo largo armado con espinas. Los folíolos lobulados en la base y atenuados en el ápice (Figura 5b); inflorescencias en racimos terminales, con corola grande y vistosa de color rojo o rosa. Estandarte lineal, agudo o atenuado al ápice, alas ovado oblongas, estambres 10, estilo filiforme, estigma ligeramente ensanchado (Figura 5c). El Fruto es una vaina bivalvada, dehiscente color

café y las semillas son ovoides y rojas (Figura 5d) (Estrada y Marroquín, 1990). Florece de enero a abril (Anexo 1).

Los nombres comunes que se consignaron en los ejemplares de herbarios MEXU y ENCB son pipe en Oaxaca, picocho cimarrón en Puebla, colorín rojo, colorín de savana en Veracruz. Los nombres comunes encontrados en la literatura son: colorín, patol, pichoco de monte (Avendaño y Acosta, 2000), cimarrona madre, patol colorín (Avendaño y Flores, 1999) en Veracruz; pemoche, patol en San Luis Potosí y colorín, patol, patol colorín (Standley, 1926) en Tamaulipas. Esta especie tienen una subespecie: *nigrorosae* (descrita por Krukoff y Barneby ).

La distribución de ésta especie registrada en los ejemplares de los herbarios MEXU y ENCB, es, en los estados de Chiapas, Guerrero, Michoacán, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y Querétaro; con mayor abundancia en Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz. La distribución reportada en la literatura es: en los estados de Chiapas, Hidalgo (Austin, 2004), Nuevo León (Avendaño y Flores, 1999) Oaxaca, Puebla (Austin, 2004), San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz (Avendaño y Flores, 1999).

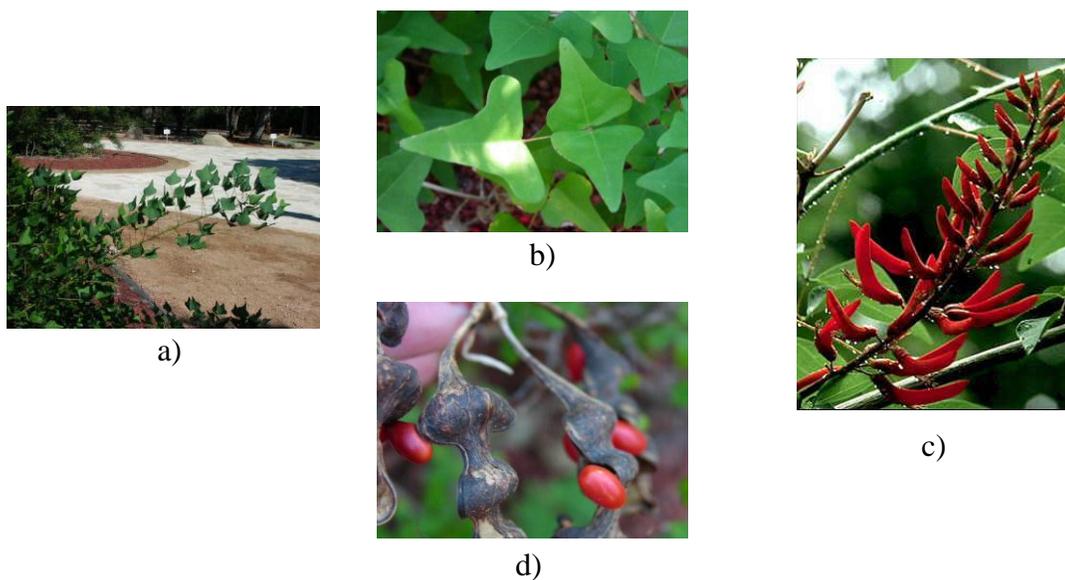


Figura 5. *Erythrina herbacea*; a) planta completa; b) hojas; c) inflorescencia y d) frutos y semillas.

Los tipos de vegetación y suelos en los que se desarrolla, registrados en los ejemplares de los herbarios MEXU y ENCB son los siguientes; se encuentra en diferentes tipos de vegetación como: vegetación riparia, pastizal, matorral, bosque tropical caducifolio, subcaducifolio, bosque seco de encino y pino, bosque de encino *Quercus spp*, selva baja, selva baja caducifolia, selva húmeda tropical, selva alta perennifolia, selva mediana, selva mediana caducifolia, selva mediana perennifolia, selva mediana subperennifolia, selva mediana subcaducifolia; selva baja espinosa, selva tropical subcaducifolia, decidua, y también se puede encontrar como vegetación primaria o secundaria. Se desarrolla en diversos tipos de suelo, como: calizo, pedregoso, arenoso, arcilloso, anegado; somero, variando de color como negro, amarillo, rojo, café y pardo. El clima en el que se encuentra es calido-húmedo, principalmente y la altitud varía de los 0 hasta 3350 m.

Los alcaloides que contiene en la semilla son de tipo alquénico (erisotiopina, eritratidina, erisotiovina), y diénico (erisodina, erisopina, erisotrina, erisovina, eritralina, eritrinina y eritroresina) (Abdullah *et al.*, 1979; Austin, 2004; Garín-Aguilar *et al.*, 2005); compuestos que le proporcionan la toxicidad reportada por diferentes autores (Standley, 1926; Austin, 2004).

### 2.3. Mosquito transmisor de la fiebre amarilla *A. aegypti*.

Es un mosquito pequeño, de color negro, abdomen punteado y apéndices con escamas blancas plateadas que forman anillos en las articulaciones; el tórax presenta dos líneas blancas longitudinales que atraviesan el centro y a los lados tienen líneas del mismo color que siguen a los costados (Goddard, 2003).

Este mosquito es vector de la fiebre amarilla y también del dengue, de tal manera que *A. aegypti* es considerado el principal responsable del dengue en el mundo (Ibáñez y Gómez, 1995; Eldridge, 2005); enfermedad causada por el denguevirus (arbovirus), en cualquiera de sus cuatro serotipos (DEN1, DEN2, DEN3 y DEN4) (Hernández *et al.*, 2006).

En México, las áreas con potencial de transmisión de dengue se encuentran en los principales desarrollos turísticos, como Acapulco, Cancún, Manzanillo y Mazatlán, así como importantes centros económicos, industriales, agropecuarios, petroleros y pesqueros como Ciudad Valle, Mérida Monterrey, Puerto de Veracruz, Tampico, Tapachula y Villahermosa, entre otros. Los estados más afectados por el dengue han sido Guerrero, Nuevo León, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz con 11785, 15837, 11174, 12414 y 21282 casos respectivamente de 1997 al 2002 (Thirion, 2003).

El mayor problema es la constante aparición de brotes de dengue, lo que hace que esta especie sea objeto de estudio para su eliminación, pues es un gran problema en el sector salud en los países y estados tropicales y subtropicales; por lo que conocer la biología de este vector es importante, ya que la reducción en cualquiera de las etapas de la vida del mosquito puede ser utilizada como monitor para su control (Fernández y Flores, 1995).

### 2.3.1. Biología.

El ciclo biológico de *A. aegypti*, de huevo a adulto, se completa en óptimas condiciones de temperatura (25-29° C) y alimentación en 10 d y pasa por huevo, cuatro instares larvales, pupa y adulto (Eldridge, 2005), como se aprecia en la Figura 6 (Modificada de Rozendaal, 1997 y Goddard, 2003)

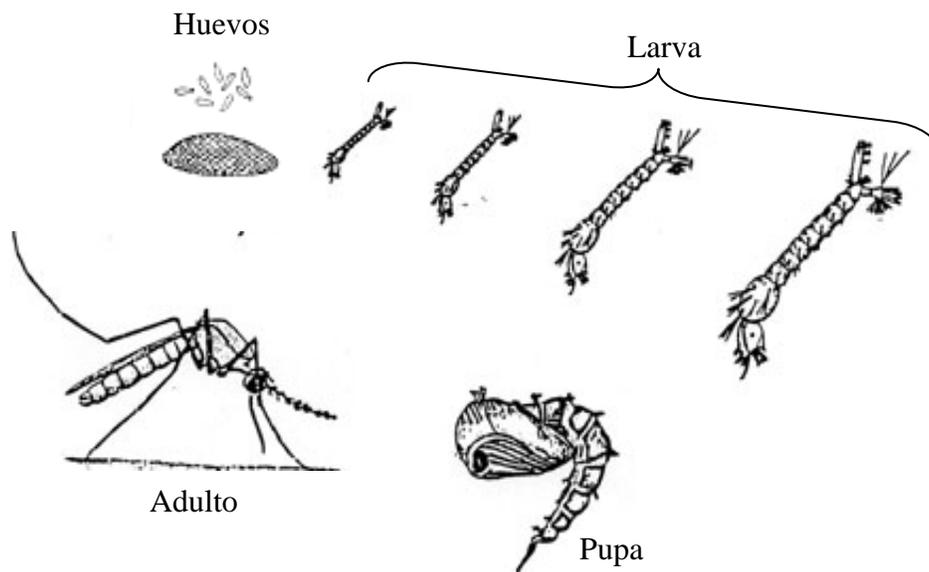


Figura 6. Ciclo biológico de *A. aegypti*.

Los huevos miden aproximadamente 1 mm de longitud cada uno y tienen forma de cigarro (Nelson, 1986). La postura se realiza en la superficie del agua, al principio los huevos, son blancos luego se tornan negro brillante. En condiciones normales eclosionan a los 2 o 3 d, pero son capaces de resistir desecación y temperaturas extremas, sobreviviendo de 7 meses a 1 año; capacidad que obstaculiza el control (Nelson, 1986; Rozendaal, 1997; Eldridge, 2005).

Las larvas emergen e inician un ciclo de cuatro instares en el agua, siendo el periodo de mayor alimentación y crecimiento; son fotosensibles (Nelson, 1986). La duración del desarrollo larval depende de la temperatura, la disponibilidad de alimentos y la densidad de larvas en el recipiente (Nelson, 1986; Eldridge, 2005). En condiciones óptimas, con temperaturas de 25 a 29° C, el período desde la eclosión hasta la pupación va de 5 hasta 14 d; las pupas no se alimentan, pasan por un estado de reposo donde se producen importantes modificaciones anatómico-fisiológicas hasta la aparición de los adultos (Nelson, 1986). Este período dura de 1 a 3 d en condiciones favorables, con temperaturas entre 28 y 32° C (Nelson, 1986; Eldridge, 2005).

Los adultos al emerger permanecen en reposo permitiendo el endurecimiento del exoesqueleto y las alas; los machos se distinguen de las hembras por sus antenas plumosas y sus palpos más largos; sus partes bucales no están adaptadas para chupar sangre, su alimento es a base de carbohidratos como el néctar de las plantas. Las hembras son hematófagas y poseen hábitos de alimentación nocturnos crepusculares en cercanías a los domicilios humanos, con gran afinidad a la alimentación sobre el ser humano (Nelson, 1986; Eldridge, 2005)

Para establecer su criadero prefieren depósitos de agua ubicados en llantas, baterías viejas, botellas, latas vacías, bebederos de animales, floreros y recipientes de todo tipo; el agua debe

estar limpia, con bajo contenido orgánico y sales disueltas (Gómez-Dantés, 1991; Fernández y Flores, 1995; Ibañez y Gómez, 1995).

### 2.3.2. Control.

En larvas se han utilizado medios físicos y químicos y para adultos se han aplicado insecticidas. Estos métodos se han acompañado de campañas de saneamiento y mensajes educativos para la población en general (Gómez-Dantés, 1991).

En México, entre 1901 y 1903 se utilizó petróleo como larvicida en los cuerpos de agua que funcionaban como criaderos y en 1925 se realizó un programa de obras de ingeniería sanitaria y petrolización de criaderos, labores que se llevaron a cabo hasta la década de los años cuarenta; sustituyendo estas prácticas con la introducción del diclorodifeniltricloroetano (DDT); con el uso de este insecticida, ciudades como Colima y Manzanillo se liberaron de *A. aegypti* desde 1952 (Ibañez y Gómez, 1995); sin embargo, el territorio nacional se reinfestó por la frontera norte en 1965 y después por la sur en 1977 (Carrada *et al.*, 1984).

Aunque el DDT fue efectivo como insecticida, al paso del tiempo los mosquitos se hicieron resistentes. Además su uso provocó efectos secundarios, contaminó los ecosistemas, se bioacumuló en las cadenas tróficas, intoxicó a organismos vivos, provocando hasta la muerte, no solo de invertebrados sino también vertebrados, entre estos últimos incluido al ser humano, donde provocó efectos colaterales graves, por lo que la Organización Mundial de Salud (OMS) prohibió su uso en el campo agrícola y en campañas contra el paludismo, pues se utilizaba para este fin por su bajo costo (Adalid, 1997; García, 1991; Rodríguez, 1997; Bejarano, 1998).

Este producto fue reemplazado por otros productos organosintéticos; sin embargo *A. aegypti* ha mostrado resistencia a los insecticidas organoclorados (DDT) y en ciertas zonas ha tolerado algunos organofosforados (clorpirifós, diazinón, diclorvós, fentión, fenitrotión, malatión y temefós) (OPS, 1982; OMS, 1992; Hemingway y Ranson, 2005).

Otra alternativa de control para *A. aegypti* y otros vectores, es la exploración de productos naturales de plantas con potencial de actividad insecticida/insectistática. Por ejemplo algunas especies de *Erythrina* como *E. mulungu* en la cual el extracto etanólico de la corteza del vástago (stem bark) mostró una concentración letal media de (CL<sub>50</sub>) de 67.9 mg L<sup>-1</sup>, en larvas de cuarto instar (De Omena, 2007). En *E. americana* los extractos metanólicos: fracción de alcaloides libres, y los alcaloides erisovina y β eritroidina obtenidos de las semillas, se aplicaron en larvas del cuarto instar de *C. quinquefasciatus*, mostraron una CL<sub>50</sub> de 87.5, 399 y 225 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (García-Mateos *et al.*, 2004. Esto indica que los extractos crudos tienen una CL<sub>50</sub> baja y sugiere que son más efectivos para lograr la mortalidad de las larvas de organismos vectores.

### 3. JUSTIFICACIÓN.

El mosquito de la fiebre amarilla, *A. aegypti*, también, es vector del dengue, enfermedad grave de alta relevancia para México, ha desarrollado resistencia a varios insecticidas organosintéticos utilizados en su control y existen pocas sustancias que controlan a estos vectores de enfermedades humanas, por lo tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1992) sugiere la realización de investigaciones para encontrar plaguicidas opcionales o métodos alternativos para el control de este vector; de esta manera diferentes autores han recurrido a la búsqueda de sustancias vegetales para observar su efecto en la larva, debido a que es la fase del insecto más susceptible por encontrarse en lugares fijos. En el presente trabajo se hace una aproximación para el control de la larva de este mosquito al evaluar los extractos crudos y alcaloide purificado de *E. herbacea*.

## 4. OBJETIVOS.

### 4.1. Objetivo general.

- Evaluar el efecto tóxico de las fracciones de alcaloides libres (FAL) y alcaloides liberados (FAH) y de alcaloides puros de *E. herbacea* en larvas del cuarto instar de *A. aegypti*.

### 4.2. Objetivos particulares.

- Obtener los extractos crudos FAL y FAH y alcaloides puros de la FAH de las semillas de *E. herbacea*.
- Identificar los alcaloides puros obtenidos de la FAH por de Resonancia Magnética Nuclear (RMN- $H^1$ ).
- Evaluar la toxicidad de diferentes concentraciones de la FAL, la FAH y a diferentes tiempos de los alcaloides puros obtenidos.
- Obtener la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) para la FAL y la FAH y la CL<sub>50</sub> y tiempo letal medio (TL<sub>50</sub>) para los alcaloides.

## 5. MATERIALES Y METODOS.

Este estudio se desarrollo en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y tuvo dos etapas; la primera contempló el trabajo fitoquímico desarrollado en el Laboratorio de Fitoquímica y consistió en la obtención de los extractos crudos FAL y FAH y los alcaloides puros de las semillas de *E. herbacea*, y en la segunda se evaluó la toxicidad de los extractos crudos FAL y FAH y los alcaloides puros obtenidos en larvas del cuarto instar de *A. aegypti*. Los bioensayos se desarrollaron en el Insectario del Colegio de Postgraduados.

### 5.1. Colecta de plantas y Trabajo fitoquímico.

#### 5.1.1. Material vegetal.

Las semillas de *E. herbacea* se colectaron en San Pedro de las Anonas, San Luis Potosí, México, y las identificó el Dr. Mario Sousa Sánchez, experto en Leguminosas del herbario MEXU de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### 5.1.2. Extractos crudos.

Para obtener los extractos se siguió el método descrito por Millington *et al.* (1974) y Games *et al.* (1974), brevemente consiste en lo siguiente:

Extracto crudo de la parte hexánica: las semillas (790 g) se trituraron en un molino de mano; y se empaquetaron en papel filtro enseguida se colocaron dentro de la cámara de extracción (extractor Soxhlet) con hexano a reflujo por 31 h, luego de evaporar el disolvente a sequedad en un rotaevaporador, el extracto crudo obtenido se acidificó con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 2%. Esta muestra se colocó en un embudo de separación para extraer el aceite contenido en el extracto con lavados consecutivos de diclorometano (3 x 100 mL). La fase acuosa

se recuperó y basificó con  $\text{NaHCO}_3$  hasta alcanzar pH 8-9, seguida de una extracción con diclorometano (3 x 100 mL). A la parte orgánica (diclorometano) se le agregó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro para eliminar trazas de agua; finalmente se filtró y evaporó a sequedad a presión reducida en el rotaevaporador, el extracto obtenido (fracción de alcaloides libres del extracto hexánico) se tomó con una pipeta Pasteur y se colocó en un frasco.

Posteriormente el paquete de semillas trituradas se sacó del extractor Soxhlet y se dejó evaporar el hexano a temperatura ambiente para proceder enseguida a la extracción con metanol.

El paquete con las semillas trituradas se colocó nuevamente en el extractor Soxhlet con metanol a reflujo por 48h; transcurrido el tiempo, se evaporó el disolvente a sequedad en el rotaevaporador; obteniendo el extracto crudo, éste se disolvió con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 2%, seguido de lavados con diclorometano (4 x 100 mL). La parte orgánica se descartó. La parte acuosa se recuperó y se llevó a pH 8-9 con  $\text{NaHCO}_3$ , en un embudo de separación se lavó con diclorometano (4 x 100 mL). Se recuperaron las dos partes, la acuosa se guardó para su posterior procesamiento; a la orgánica, se le agregó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro para eliminar el exceso de agua, se filtró y se evaporó el disolvente, obteniéndose la FAL, esta se colocó en un vial.

La parte acuosa recuperada del proceso anterior se acidificó a pH 1 con ácido clorhídrico concentrado y se llevó a reflujo durante 3 h a 60-70° C; ya fría se alcalinizó con  $\text{NaHCO}_3$  hasta obtener pH 8 y se hicieron lavados con diclorometano (4 x 100 mL); luego se recuperó la parte orgánica y se agregó  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro para eliminar el exceso de agua de la muestra, en seguida se filtró y evaporó el disolvente en el rotaevaporador, obteniendo así la FAH. La parte acuosa se desechó.

### 5.1.3. Alcaloides puros.

Se separó una muestra de 6 g de la FAH de *E. herbacea* por cromatografía en columna. Se hicieron dos columnas en este esquema de purificación. En la primera se eliminaron las impurezas de la muestra, agregando los disolventes con diferentes polaridades: 100 % diclorometano (D); 90:10 diclorometano: metanol (D:M); 80:20 D:M; 70:30 D:M; 60:40 D:M y 50:50 D:M. Para cada cambio de polaridad se obtuvieron 10 muestras de 10 mL cada una.

En la siguiente columna se separaron las muestras 5, 6 y 7 de la fracción 90:10 (D:M) de la columna anterior, que mostraron presencia de alcaloides; los cambios de polaridad fueron los siguientes 100 % D; 99.95: 0.05 D:M; 99.90:0.1 D:M... hasta 96.45: 3.55 D:M, (cambios de polaridad de 0.05 mL por concentración). Para cada cambio de polaridad se obtuvieron 10 muestras de 10 mL cada una.

La identificación cualitativa de las fracciones se realizó por cromatografía de capa fina; se usaron placas de sílicagel (gel de silica G 60 Merck 70-230 mallas) de 5 x 2 cm. Se corrieron las placas en una mezcla de diclorometano:etanol (D:E) (9:1). Se observaron en la cámara de luz ultravioleta en longitud de onda corta y larga y se revelaron con el reactivo de Dragendorff.

Con base en la identificación de las placas, las fracciones similares se mezclaron y se recrystalizaron por par de disolventes: etanol absoluto:éter de petróleo. Se disolvió la muestra en etanol absoluto y se añadió gota a gota éter de petróleo hasta cristalización completa, posteriormente, se dejó reposar la mezcla y antes de que el disolvente se evaporara por completo se decantó para recuperar los cristales formados. Estos cristales se rasparon y se depositaron en

un vial para su posterior identificación y tomar el punto de fusión en un Equipo Electrothermal (Electrothermal, Co. U K).

La identificación de alcaloides se llevó a cabo en el Instituto de Química de la UNAM, en Ciudad Universitaria en un espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear (RMN- $H^1$ ); modelo Bruker-360 a 300 MHz, y con  $CDCl_3$  como disolvente.

## 5.2. Evaluación de la toxicidad.

### 5.2.1. Cría del insecto.

La cría del insecto se efectuó en el Insectario del Colegio de Postgraduados. Ésta comenzó con la colecta de un disco de papel Kraft con huevos de la jaula entomológica (60 x 50 x 50cm), donde se encontraba la población de mosquitos adultos; el disco se colocó en un recipiente de plástico (8 x 29 x 17 cm) con agua corriente para inducir la eclosión de los huevos y emergencia de las larvas; posteriormente se les proporcionó trozos pequeños de comida molida para perro como alimento. Transcurrido el período larval, de aproximadamente 10 d, las pupas formadas se colectaron y depositaron en recipientes pequeños redondos (10x 10 cm), y se introdujeron en la jaula entomológica donde emergieron los adultos. Dentro de la jaula se mantuvieron discos de papel Kraft con agua para que las hembras ovipositaran y con la colecta de los discos con huevos se iniciaba nuevamente el ciclo de cría.

Para la alimentación, los adultos machos dispusieron de agua con azúcar y las hembras se alimentaron de la sangre succionada de hamster adulto macho.

### 5.2.2. Bioensayos con las fracciones alcaloideas y alcaloide puro.

Se prepararon siete concentraciones acuosas para cada fracción alcaloidea; 7.1, 4, 2, 1, 0.5 y 0.1%, utilizando Tween 20 al 20%, como emulsificante; como testigos se usó agua y una solución acuosa con Tween 20 al 20%. Para el alcaloide puro se prepararon seis concentraciones; 1, 0.3, 0.1, 0.03, 0.01, 0.003 y 0.001% con Tween 20 al 20% como emulsificante, y agua y una solución de Tween 20 al 20% en agua como testigos.

En un vaso de plástico (tamaño 4) con 20 mL de agua y 20 larvas de cuarto instar, del mosquito *A. aegypti* se agregó 1 mL de cada concentración de fracción alcaloidea o alcaloide puro, quedando en la unidades experimentales las concentraciones de 3570, 2000, 1000, 500, 250 y 50 mg L<sup>-1</sup> para las fracciones y de 500, 150, 50, 15, 5, 1.5, 0.5 mg L<sup>-1</sup> para el alcaloide puro, a las tres y cuatro repeticiones de cada evaluación respectivamente se registró la mortalidad a las 24 h después de la aplicación y en el caso del alcaloide puro ésta se consignó además a las 48, 72, 96 y 120 h después de la aplicación.

A los datos de mortalidad se les aplicó el análisis probit usando el paquete estadístico SPSS versión 15.0, y se obtuvieron concentraciones letales 5, 50 y 95 (CL<sub>5</sub>, CL<sub>50</sub> y CL<sub>95</sub>) a las 24 h y en el caso del alcaloide puro, también a 48, 72, 96 y 120 h. A la mortalidad ocasionada por la erisodina a 150 mg mL<sup>-1</sup> se analizó con el programa probit para determinar el tiempo letal medio (TL<sub>50</sub>).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 6.1 Rendimiento y mortalidad de las fracciones alcaloideas.

#### 6.1.1 Rendimiento de las fracciones alcaloideas.

El extracto alcaloideo hexánico obtenido fue de 0.136 g; un rendimiento de 0.01%, cantidad insuficiente para las pruebas biológicas, pues según Robinson (1979), si una planta contiene más del 0.05%, de alcaloides con base al peso seco, se considera como una fuente de alcaloides, por lo tanto no se evaluó. De la extracción metanólica, se obtuvo 1.060 g de FAL y 112 g de FAH con rendimientos de 0.13% y 0.14% respectivamente.

En otras especies de *Erythrina* como *E. americana* se han reportado rendimientos de 0.29% para la FAL y de 0.05 % para la FAH (García-Mateos *et al.*, 2004), estas diferencias en rendimiento se deben a la diferencia en especie, a los procesos de extracción, o bien, a que el material vegetal estuvo expuesto a diferentes condiciones climáticas (estrés hídrico, temperatura), la altitud, época del año de colecta e incluso el tiempo de almacenamiento, entre otros factores.

#### 6.1.2 Mortalidad de las fracciones alcaloideas

El porcentaje de mortalidad larval registrado para la FAL fue de 1.7 hasta 56.7 %, como se muestra en el Cuadro 1; con  $CL_{50}$  de 3360.66 (Cuadro 2).

Cuadro 1. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar del mosquito *Aedes aegypti* 24 h después de la aplicación de la FAL.

FAL (mg L <sup>-1</sup> )*	Repeticiones			Mortalidad (%)
	I	II	III	
3570	60	55	55	56.7
2000	10	10	20	13.3
1000	0	5	0	1.7
Tween 20(20%)	0	0	0	0
0 (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 500, 250 y 50 mg L<sup>-1</sup> se omitieron debido a que no causaron efecto sobre las larvas.

Cuadro 2. Concentración y límites fiduciales de la FAL que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti*.

Mortalidad (%)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferiores	Superior
5	1443.51	987.33	1756.45
50	3360.66	3130.74	3655.66
95	5277.81	4773.45	6055.57

Este extracto obtenido de las semillas de *E. herbacea* provocó la mortalidad de más de la mitad de la población (56.7%) de larvas expuestas a este tratamiento con la concentración más alta (3570 mg L<sup>-1</sup>); caso contrario observado con los extractos crudos de las semillas de *E. americana* utilizados en larvas de *C. quinquefasciatus*, (García *et al.* 2004), donde la FAL a 300 mg L<sup>-1</sup> ocasiono mortalidad de 88 % con la concentración más baja de 300 mg L<sup>-1</sup>.

Esta diferencia se debe probablemente a que los alcaloides que se encuentran en cada fracción sean diferentes, en la FAL de *E. americana* se localizan alcaloides lactónicos, de los que se han reportado una elevada toxicidad en animales de laboratorio (García-Mateos *et al.*, 2000a) y en la FAL de *E. herbacea* se encuentran alcaloides diénicos (Garín-Aguilar *et al.*, 2005), de los que se reporta su toxicidad en ratas (Standley, 1926; Austin, 2004); sin embargo no se hace énfasis a una alta toxicidad.

Este resultado se confirma con la  $CL_{50}$ , pues para la FAL de *E. herbacea* fue de 3360.66 mg  $L^{-1}$  y la reportada para *E. americana* fue de 100.7 mg  $L^{-1}$  (García-Mateos *et al.*, 2004); 11.9 veces menor y provocó una mortalidad 31.3% más alta, deduciendo que en *E. herbacea* los alcaloides presentes en la FAL son menos tóxicos debido a su diferente proporción contenida en las semillas.

En contraste el porcentaje de mortalidad larval registrado con la FAH fue del 3.3 al 96.7 % (Cuadro 3) y la  $CL_{50}$  fue de 1212.52 mg  $mL^{-1}$  (Cuadro 4)

Cuadro 3. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar del mosquito *Aedes aegypti* 24 h después de la aplicación de la FAH.

FAH (mg $L^{-1}$ )*	Repeticiones			Mortalidad (%)
	I	II	III	
3570	100	95	95	96.7
2000	90	90	95	91.7
1000	50	35	50	45
500	5	5	0	3.3
Tween 20 (20%)	0	0	0	0
0 ( $H_2O$ )	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 250 y 50 mg  $L^{-1}$  se omitieron debido a que no causaron efecto sobre las larvas.

Cuadro 4. Concentración y límites fiduciales de la FAH que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti*.

Mortalidad (%)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	428.46	0.0	919.85
50	1212.52	600.65	3029.42
95	1996.58	1411.03	8996.31

Este extracto obtenido de semillas de *E. herbacea* provocó un alto porcentaje de mortalidad con las concentraciones más altas (3570 y 2000 mg L<sup>-1</sup>), y con la concentración de 1000 mg L<sup>-1</sup> ocasionó el 45% de mortalidad; porcentaje 2.8 veces más alto que la efectividad que mostró en larvas de *C quinquefasciatus* la misma fracción de alcaloides obtenida de *E. americana*, ya que ésta provocó 16% de mortalidad con la misma concentración (García-Mateos *et al.*, 2004).

Esto indica que la concentración de alcaloides presente en *E. herbacea* también tienen una diferencia de proporción en las semillas, pues en la FAH existen los mismos alcaloides diénicos en ambas especies (García-Mateos *et al.*, 2000a; Garín-Aguilar *et al.*, 2005). Este resultado se sustenta con la CL<sub>50</sub> obtenida para *E. herbacea* la cual fue de 1212.52 mg L<sup>-1</sup>, pero no fue calculada para *E. americana*, debido a que el porcentaje de mortalidad mostrado en esta fracción no fue de 50% o mayor.

## 6.2. Características, rendimiento y mortalidad del alcaloide puro.

### 6.2.1. Características y rendimiento del alcaloide.

*E. herbacea* contiene diferentes alcaloides en sus semillas (Abdullah *et al.*, 1979; Austin, 2004) y en la FAH se encuentran erisovina, erisodina y erisopina, alcaloides diénicos y el predominante es erisopina (Garín-Aguilar *et al.*, 2005). Sin embargo en el lote de semillas que se analizó en este estudio, quizá a la época de colecta, solo se encontró un solo alcaloide, que corresponde a la erisodina de acuerdo a las siguientes características:

El punto de fusión del alcaloide puro fue 200° C. El espectro de RMN mostró la siguiente referenciación, se ve claramente la posición de los grupos OCH<sub>3</sub>, una a 3.33 δ y otra señal del OCH<sub>3</sub> a 3.78 δ. Los protones alquénicos 2-H, 1-H y 7-H se ven a 6.58, 6.0 y 5.75 δ respectivamente y los protones aromáticos de H-14 y H 17 se observaron a 6.80 y 6.70 δ. Este patrón de señales indica al alcaloide puro como erisodina (alcaloide diénico), del cual se muestra su estructura (Figura 7). Los protones 3-Ha, 4-Ha<sub>3</sub>, 4-He, 8-H, 8-H, 10-Ha 10-H<sub>3</sub>, 11Ha y 11He, se observaron a 4.08, 1.85, 2.53, 3.70, 3.58, 2.92, 3.52, 2.92 y 2.65 δ respectivamente.

La cantidad obtenida del alcaloide puro fue de 0.0687 g, un rendimiento de 0.008%, respecto al peso de la semilla.

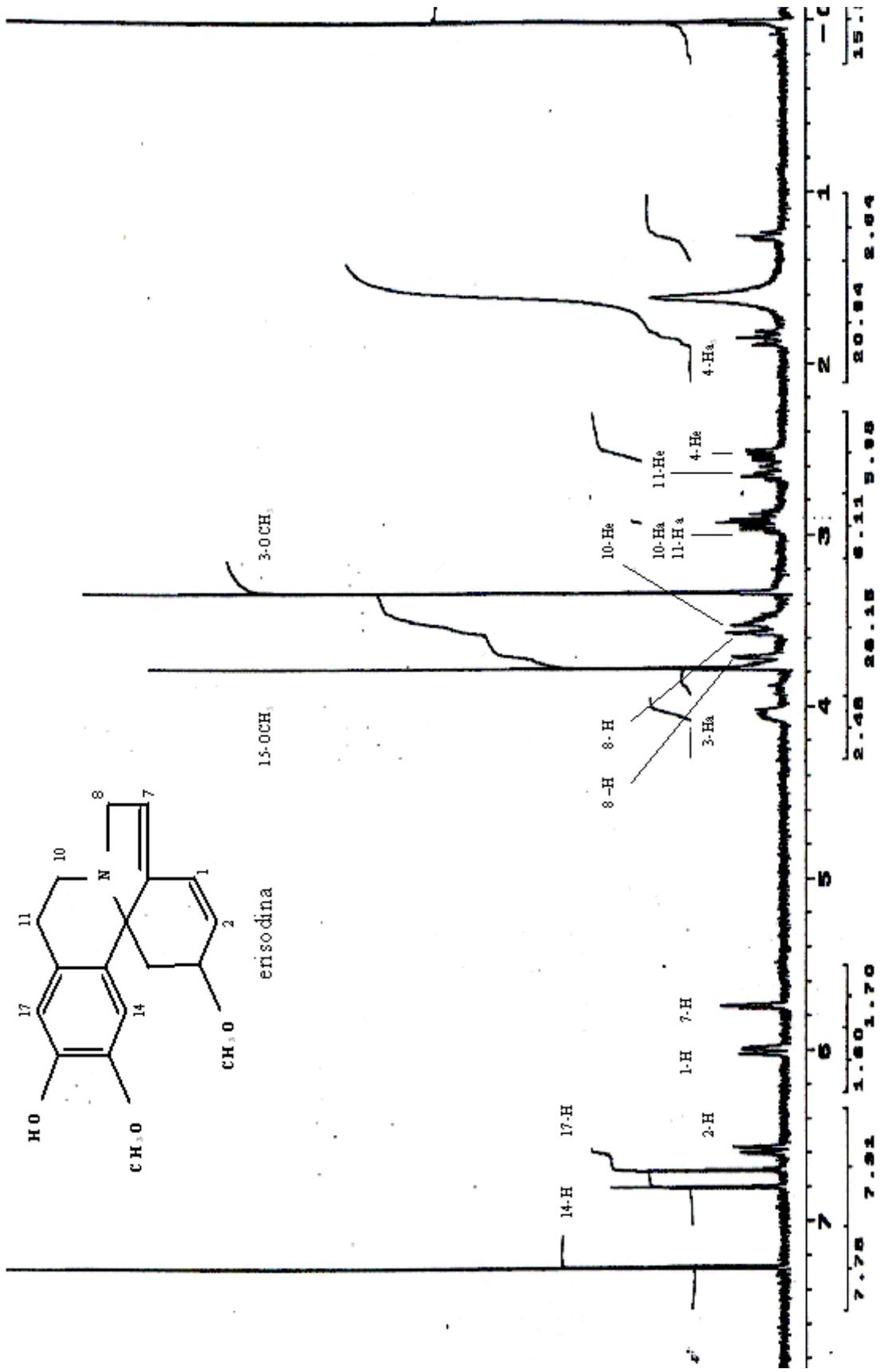


Figura 15. Espectro del alcaloide puro con  $\text{H}^1$  RMN

### 6.2.2. Mortalidad que ocasiona el alcaloide erisodina.

La mortalidad larval provocada por erisodina, a las 24 h de la aplicación fue del 2.5 hasta 67.5 % (Cuadro 5), con  $CL_{50}$  de 398.02 mg mL<sup>-1</sup>(Cuadro 6)

Cuadro 5. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 24 h de la aplicación de erisodina.

Erisodina (mg L <sup>-1</sup> ) *	Repeticiones				Mortalidad (%)
	I	II	III	IV	
500	90	60	40	80	67.5
150	10	25	15	20	17.5
50	0	0	5	5	2.5
Tween 20 (20%)	0	0	0	0	0
0 (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 15, 5, 1.5 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>, se omitieron a que no mostraron efecto sobre las larvas.

Cuadro 6. Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan el 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 24 h después de la aplicación.

Mortalidad (%)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	70.75	0.0	231.54
50	398.02	238.38	889.08
95	725.28	497.53	2212.36

La mortalidad de larvas provocada por el alcaloide erisodina a las 48 h después de aplicado el tratamiento, aumentó con respecto a 24 h de 2.5 hasta 75% (Cuadro 7), siendo la  $CL_{50}$  de 345.85  $mg L^{-1}$  (Cuadro 8)

Cuadro 7. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 48 h de la aplicación de erisodina.

Erisodina ( $mg L^{-1}$ ) *	Repeticiones				Mortalidad (%)
	I	II	III	IV	
500	95	65	60	80	75
150	10	30	15	80	33.75
50	0	0	5	5	2.5
Tween 20 (20%)	0	0	0	0	0
0 ( $H_2O$ )	0	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 15, 5, 1.5 y 0.5  $mg L^{-1}$ , se omitieron debido a que no mostraron efecto sobre las larvas.

Cuadro 8. Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 48 h después de su aplicación.

Mortalidad (%)	Concentración ( $mg L^{-1}$ )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	41.00	0.0	200.23
50	345.85	184.71	893.58
95	650.70	426.89	2234.59

A las 72h la mortalidad de larvas provocada por erisodina aumentó en 2.5-15% con respecto a 48 h (Cuadro 9) obteniendo la  $CL_{50}$  de 271.4 mg L<sup>-1</sup> (Cuadro 10).

Cuadro 9. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 72 h de la aplicación de erisodina.

Erisodina (mg L <sup>-1</sup> ) *	Repeticiones				Mortalidad (%)
	I	II	III	IV	
500	95	80	90	95	90
150	15	30	25	80	37.5
50	5	5	5	5	5
Tween 20 (20%)	5	5	0	10	5
0 (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 15, 5, 1.5 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>, se omitieron debido a que no mostraron efecto sobre las larvas.

Cuadro 10. Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95 % de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 72 h después de su aplicación.

Mortalidad (%)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	27.44	0.0	150.12
50	271.40	148.61	595.12
95	515.36	342.63	1366.30

A las 96 h la mortalidad de las larvas provocada por erisodina aumentó 3.75-30% con respecto a 72 h, lograndose mortalidad total a la concentración de 500 mg L<sup>-1</sup> (Cuadro 11) y la CL<sub>50</sub> de 124.93 mg L<sup>-1</sup> (Cuadro 12)

Cuadro 11. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 96 h de aplicación de erisodina.

Erisodina (mg L <sup>-1</sup> )*	Repeticiones				Mortalidad (%)
	I	II	III	IV	
500	100	100	100	100	100
150	55	65	65	85	67.5
50	15	10	5	5	8.75
Tween 20 (20%)	20	20	0	25	16.25
0 (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 15, 5, 1.5 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>, se omitieron debido a que no mostraron efecto sobre las larvas.

Cuadro 12. Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 96 h después de su aplicación.

Mortalidad (%)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	34.05	5.57	52.77
50	124.93	113.55	137.49
95	215.80	193.84	249.90

A las 120 h la mortalidad de las larvas provocada por erisodina no aumentó significativamente (Cuadro 13), y la CL<sub>50</sub> fue de 95.73 mg L<sup>-1</sup>(Cuadro 14).

Cuadro 13. Mortalidad (%) de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 120 h de la aplicación de erisodina.

Erisodina (mg L <sup>-1</sup> ) *	Repeticiones				Mortalidad (%)
	I	II	III	IV	
150	90	90	95	95	92.5
50	15	10	15	5	11.25
Tween 20 (20)	30	20	0	25	18.75
0 (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	0	0

\*Las concentraciones de 15, 5, 1.5 y 0.5 mg L<sup>-1</sup>, se omitieron debido a que no mostraron efecto sobre las larvas.

Cuadro 14. Concentración y límites fiduciales de erisodina que ocasionan 5, 50 y 95 % de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti* a las 120 h de su aplicación.

Mortalidad (%)	Concentración (mg L <sup>-1</sup> )	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	33.73	16.83	46.40
50	95.73	86.49	105.08
95	157.73	144.70	175.22

El alcaloide erisodina, obtenido de las semillas de *E. herbacea* a la concentración de 500 mg L<sup>-1</sup>, provocó 67.5% de mortalidad de la población larval a las 24 h, comportamiento similar al que presentó el alcaloide erisovina, extraído de semillas de *E. americana* aplicado en larvas de *C. quinquefasciatus* (García-Mateos *et al.*, 2004); con la misma concentración provocó 61.7% de mortalidad, 24 h después de la aplicación. La CL<sub>50</sub> para erisodina fue de 398.02 y para erisovina de 399 mg L<sup>-1</sup>; este comportamiento fue similar, debido a que son alcaloides diénicos y son isómeros; cabe mencionar que erisodina comenzó a tener efecto en las larvas a los 20 min después de aplicar el tratamiento en la concentración más alta.

El alcaloide β-eritroidina, aislado de *E. americana*, provocó 60% de mortalidad en las larvas de *C. quinquefasciatus* con la concentración de 250 mg L<sup>-1</sup>; con CL<sub>50</sub> de 225 mg mL<sup>-1</sup>, lo que indica que este alcaloide lactónico es 1.6 veces más tóxico que erisodina, un alcaloide diénico (García-Mateos *et al.*, 2004).

Respecto al efecto provocado por erisodina en la mortalidad de larvas de *A. aegypti* a lo largo del tiempo; se observó la mayor mortalidad a las 24 h, y a partir de ese tiempo se incrementó gradualmente, con pequeños porcentajes hasta llegar al 100% a las 96 h en la concentración de 500 mg L<sup>-1</sup>. En la concentración de 150 mg L<sup>-1</sup> la mortalidad de 92.5% se presentó a las 120h; siendo en el transcurso de 72 a 96 h el incremento más alto de mortalidad. La concentración de 50 mg L<sup>-1</sup>, mostró el 15% de mortalidad a las 120 h.

Un efecto visible sobre el movimiento de los organismos vivos a las 48 h, fue una respuesta lenta y tardía ante un estímulo físico (contacto). A las 72 h el grupo control de Tween 20 (20%) se aglutinó y se observaron larvas muertas, de manera que a las 96 h la mortalidad fue de 16.25%,

algunas de estas murieron en el proceso a pupación, lo que indica que el Tween no sirve para comparación de toxicidad en larvas del mosquitos a las 96 h y en adelante. Otros eventos observados fueron que a las 120 h en el grupo testigo con agua emergieron tres adultos, y el volumen del agua en las unidades experimentales donde se encontraban los organismos se redujo al 50 % de la capacidad inicial.

Los límites fiduciales de las  $CL_{50}$  a las 24, 48 y 72 h se traslapan lo que indica que tienen toxicidad similar, y las concentraciones son efectivas, sin embargo, a partir de 96 a 120 h ( $124$  y  $95$   $mg\ L^{-1}$ ) pierden efectividad, probablemente a que este compuesto sufre una oxidación o bien que el insecto incrementa su resistencia. Cabe aclarar que la mortalidad que se presenta es acumulada y aunque aparentemente la  $CL_{50}$  disminuye no quiere decir que el extracto sea más efectivo, sino que la población que está expuesta al tratamiento también va disminuyendo. Es decir, en las 24 horas quedó vivo el 32.5% de la población a  $500\ mg\ L^{-1}$ , la cual siguió expuesta al tratamiento y fue disminuyendo a través del tiempo, por ende fue bajando la cantidad de tóxico para obtener  $CL_{50}$ .

### 6.2.3. Tiempo letal medio a $150\ mg\ L^{-1}$ .

Ésta concentración presentó a las 72.24 h un porcentaje de mortalidad de 50% (Cuadro 15). El incremento de mortalidad más significativo se observó entre este tiempo y las 96 h, llegando hasta el 67.5%, sin embargo, aunque haya causado este porcentaje de mortalidad se considera, bajo el índice de toxicidad, por tener un  $TL_{50}$  mayor a 24 horas (Vargas y Ubillo, 2001); como una concentración de baja toxicidad.

Cuadro 15. Tiempo letal medio y límites fiduciales de la concentración de 150 mg L<sup>-1</sup> de erisodina, que ocasionó el 5, 50 y 95% de mortalidad de larvas del cuarto instar de *Aedes aegypti*.

Mortalidad (%)	Tiempo letal (h)	Límites fiduciales al 95%	
		Inferior	Superior
5	24	0.0	29.69
50	72.24	49.70	95.93
95	145.67	114.10	258.98

### 6.3. Toxicidad de fracciones alcaloideas y erisodina.

En la evaluación de efectividad de las fracciones alcaloideas obtenidas de semillas *E. herbacea*, la FAL (fracción donde se encuentra los alcaloides erisodina, erisotrina, erisovina, eritralina y glucoerisopina) a la concentración de 3570 mg L<sup>-1</sup> provocó el 56.7% de mortalidad a las 24 h (Cuadro 1); mientras que la FAH (fracción donde se encuentran los alcaloides erisodina, erisopina y erisovina) mostró con la concentración de 3570 mg L<sup>-1</sup> el mejor efecto al provocar 96.7% de mortalidad en las larvas a las 24 h (Cuadro 2). Estos resultados concuerdan con el estudio previo realizado por García-Mateos *et al.* (2000b), quienes trabajaron con los mismos extractos obtenidos de semillas de *E. americana*, aplicados en los crustáceos (*A. salina* y *D. magna*), la bacteria (*B. cereus*) y el nemátodos (*P. redvivus*), donde la FAH (fracción con los alcaloides diénicos erisodina, erisopina y erisovina) mostró mejor efectividad, que la FAL. Caso contrario al estudio de García-Mateos *et al.* (2004), donde la FAL (fracción donde se encontraron los alcaloides lactónicos  $\alpha$  y  $\beta$  eritroidina) fue más efectiva que la FAH; fracciones obtenidas de *E. americana* aplicados en larvas de *C. quinquefasciatus*. Es probable que la susceptibilidad de los organismos expuestos a los tratamientos y el contenido y concentración alcaloidal en las semillas de las especies; tenga influencia la mortalidad de las larvas.

Respecto al alcaloide erisodina aislado de semillas *E. herbacea*, este mostró un efecto similar de mortalidad que el alcaloide erisovina aislado de semillas *E. americana*, aplicado en larvas de *C. quinquefasciatus*, trabajo previo realizado por García-Mateos *et al.* (2004); donde erisovina con una concentración de 500 mg L<sup>-1</sup> provocó el 61.7 % de mortalidad en larvas; y en el presente trabajo erisodina con la misma concentración provocó 67.5%, siendo ambos alcaloides igualmente efectivos.

En base a los CL<sub>50</sub> (FAL 3360, FAH 1212 y erisodina 398 mg L<sup>-1</sup>), en orden de toxicidad, erisodina es mas efectiva que las fracciones alcaloidales para eliminar a la mitad de la población de larvas del mosquito *A. aegypti* a las 24 h.

De acuerdo con lo sugerido por la OMS (1992), y los resultados obtenidos en el presente trabajo, se recomienda hacer estudios para probar estos compuestos en campo, principalmente el extracto crudo de la FAH, el que mostró más toxicidad. Contienen una mezcla de compuestos, lo que es bueno para evitar resistencia por parte de los organismos expuestos, en este caso las larvas. Los insectos tardan más en desarrollar resistencia a una mezcla de ingredientes activos naturales que a sus componentes por separado, para estos organismos es más difícil destoxificar un complejo de sustancias que una sola molécula (Isman 1997).

## 7. CONCLUSIONES.

- Las fracciones alcaloideas (FAL y FAH), obtenidas en un rango de 0.13% y 0.14% respectivamente, del extracto metanólico de la semilla de *E. herbacea*, son tóxicas a larvas del cuarto instar temprano del mosquito transmisor de la fiebre amarilla *A. aegypti* con  $CL_{50}$  de 3360 y 1212  $mg L^{-1}$ , respectivamente, a las 24 h.
- La erisodina, obtenida (0.008%) de la fracción de alcaloides liberados, es efectiva contra larvas de este mosquito, con  $CL_{50}$  de 398  $mg L^{-1}$  a las 24 h, toxicidad que no se encuentra sustancialmente a las 48 y 72 h, y que decrece a las 96 y 120 h.
- El  $TL_{50}$  de erisodina a 150  $mg L^{-1}$  es de 72.24 h.
- La erisodina es más tóxica que las fracciones alcaloideas para eliminar la mitad de la población de larvas del mosquito a las 24h; sin embargo, debe privilegiarse el uso de FAH, la fracción más toxica, para usar una alternativa biorracional que sea más sustentable.

## 8. LITERATURA CITADA.

- Abdullah, M. I., I. E. Barakat, D. E. Games, P. Ludgate, V. G. Mavraganis, V. U. Ratnayake and A. H. Jackson. 1979. Studies of *Erythrina* alkaloids. Part III GC/MS. investigations of alkaloids in the seeds of a further fourteen species. Ann. Missouri Bot. Gard. 66:533-540.
- Adalid, T. 1997. La erradicación del DDT implicaría triplicar los costos, asegura el INE. Crónica 8 de agosto. p.p. 39. México, Distrito Federal.
- Austin, D. F. 2004. Florida ethnobotany. The Society for Economic Botany. CRC. Boca Raton, Florida, USA. Libro electrónico. Mayo, 2008.
- Avendaño, R., y J. S. Flores G. 1999. Registro de plantas tóxicas para ganado en el Estado de Veracruz, México. Rev. Vet. Méx. 30:79-94.
- Avendaño, R., e I. Acosta R. 2000. Plantas utilizadas como cercas vivas en el Estado de Veracruz. Madera y Bosques 6:55-71.
- Bejarano, G. F. 1998. La eliminación del DDT y de otros venenos invisibles. La Jornada Ecológica 26 de octubre. México. p. 59-61.
- Brito, F. I. 2005. Zompante o colorín (*Erythrina americana* Miller). Tlahui-Medic. 20(2):37.
- Carrada, T., L. Vázquez y I. López. 1984. Ecología del dengue y del *A. aegypti*. Investigaciones preliminares 2ª parte. Salud Pública Méx. 27:170-189.
- Centurión, H. D., J. G. Cázares C., J. Espinosa M., J. E. Poot-Matu y M. A. Mijangos C. 2003. Aprovechamiento alimentario de inflorescencias en la región Sierra del Estado de Tabasco. Polibotánica 15:89-97.
- Chawla, A. S., F. M. J. Redha and A. H. Jackson. 1985. Alkaloids in seeds of four *Erythrina* species. Phyto. 24:1821-1823.

- Cornelius, W. W., T. Akeng'a, G. O. Obiero y K. P. Lutta. 2009. Antifeedant activities of the erythrinaline alkaloids from *Erythrina latissima* against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera Noctidae). *Rec. Nat. Prod.* 3:96-103.
- De Omena, M. C., D. M. A. F. Navarro, J. E. de Paula, J. S. Luna M., R. Ferreira de la Luna y A. E. G. Sant'Ana. 2007. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian medicinal plants. *Biore. Techn.* 98:2549-2556.
- Eldridge, B. F. 2005. Mosquitoes, the Culicidae. Capítulo 9 p.p. 95-111. *In: Biology of disease vectors.* Marquardt, W. C., W. C. Black, J. E. Freier, H. H. Hagedorn, J. Hemingway, S. Higgs, A. A. James. B. Kondratreff y C. G. More. 2ª Ed. Elsevier. Academia Pres. New York, N. Y. 785.p.
- Elias, T. S. 1980. The complete trees of North America. Field guide and Natural History. Van Nostrand Reinhold Company. New York, N. Y. 948 p.
- Estrada, A. y J. Marroquín. 1990. Leguminosas en el centro-sur de Nuevo León. Reporte Científico Número Especial 110. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. Nuevo León. 258 pp.
- Estrada, E., C. Yen M., A. Delgado y J. A. Villareal. 2004. Leguminosas del centro del Estado de Nuevo León, México. *An. Inst. Biol. Serie Bot.* 75: 73-85.
- Fernández, I. y A. Flores. 1995. El papel del vector *Aedes aegypti* en la epidemiología del dengue en México. *Salud Pública Mex.* 37: 45-52.
- Games D E, A H Jackson, N A Khan, O S Millington. 1974. Alkaloids of some African, Asian, Polynesian and Australian species of *Erythrina*. *Lloydia* 37:581-588.
- García, F. H. 1991. De la euforia al pesimismo. La plaga de los plaguicidas. *Nuestro Ambiente* 8 de octubre. p. p. 1-4.

- García, L. M. 2005. Aislamiento y purificación de erisodina a partir de semillas de *Erythrina herbacea* L. Tesis licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Los Reyes Iztacala. Tlalnepantla. Edo. de Méx. 51p.
- García-Mateos, R., M. E. Garín-Aguilar, M. Soto-Hernández y M. Martínez-Vázquez. 2000a. Effect of  $\beta$ -erythroidine and dihidro- $\beta$ -erythroidine from *Erythrina americana* on rats aggressive behaviour. *Pharma. Pharmacol. Lett.* 10:34-37.
- García-Mateos, R., M. Soto-Hernández y M. Martínez. 2000b. Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*. *Ciencia Ergo Sum* 27:166-170.
- García-Mateos, R., M. Soto-Hernández y H. Vibrans. 2001. *Erythrina americana* Miller (“Colorín”; Fabaceae), a versatile resource from Mexico: a review. *Econ. Bot.* 55:391-400.
- García-Mateos, R., R. Pérez-Pacheco, C. Rodríguez-Hernández y M. Soto-Hernández. 2004. Toxicidad de alcaloides de *Erythrina americana* en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Rev. Fitotec. Mex.* 27(4):297-303.
- Garín-Aguilar, M. E., J. E. Ramírez L., M. Soto-Hernández, G. Valencia del Toro y M. Martínez V. 2000. Effect of crude extracts of *Erythrina americana* Mill. on aggressive behavior in rats. *J. Ethnopharm.* 69:189–196
- Garín-Aguilar, M. E., G. Valencia, M. Soto-Hernández and G. Kite. 2005. High-performance liquid chromatography-mass spectrometric analysis of alkaloids extracted from seeds of *Erythrina herbacea*. *Phytochem. Anal.* 16:302-306.
- Goddard, J. 2003. Physician’s guide to arthropods of medical importance. 4<sup>a</sup> ed. CRC Press. Boca Raton. Florida. 494 p.
- Gómez-Dantes, H. 1991. El dengue en las Américas. Un problema de salud regional. *Salud Pública Mex.* 33:347-355.

- Grainge, M. y S. Ahmed. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. New York, N.Y. John Wiley & Sons. 470 pp.
- Harbone, J. B. 1993. Introducción to ecological biochemistry. Acad. Press. London.
- Hemingway, J. and H. Ranson. 2005. Chemical control of vectors and mechanisms of resistance. Capítulo 41 p.p. 627-637. *In: Biology of disease vectors.* Marquardt W. C., W. C. Black, J. E. Freier, H. H. Hagedorn, J. Hemingway, S. Higgs, A. A. James. B. Kondratreff y C. G. More. 2ª Ed. Elsevier Academia Pres. New York, N. Y. 785 p.
- Hernández, M., J. Mier y Terán S., M. F. García H., J. E. Lázaro G. y A. A. Lladó V. 2006. Panorama epidemiológico del dengue en Tabasco, México. *Salud en Tabasco* 12:514-522.
- Ibáñez, B. y H. Gómez D. 1995. Los vectores del dengue en México: una revisión crítica. *Salud Pública Mex.* 37:53-63.
- Isman, B. M. 1997. Neem and other botanical insecticides: barriers to comercialization. *Phytoparasitica* 25(4):339-344.
- Marcano, D. y Hasegawa M. 2002. Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela. Consejo de Desarrollo científica y Humanístico. Colección estudios, Ciencias. 2ª edit. Torino Venezuela. p 593. Libro electrónico abril 2011.
- Mareggiani, G. 2001. Manejo de insectos plaga mediante sustancias semioquímicas de origen vegetal. *Manejo Integrado de plagas (Costa Rica)* 60:22-30.
- Millington S, H Steinman, K L Rinehart Jr. 1974. Isolation, gas chromatography, mass spectrometry and structures of new alkaloids from *Erythrina folkersii* Krukoff and Moldenke and *Erythrina salviflora* Krukoff and Barneby. *J. Amer. Chem. Soc.* 96:1909-1914.
- Musalem, M. 1992. *Erythrina* in México: Ocurrence, use and research. International Conference on *Erythrina* in the New World. Octubre 19-23. CATIE. Turrialba, Costa Rica.

- Nelson, M. J. 1986. *Aedes aegypti*: Biología y Ecología . Organización Panamericana de la Salud. Washington, DC. 50 pp.
- OMS. 1992 Serie de Informes Técnicos no. 818. Resistencia de los vectores de enfermedades a plaguicidas. 15° informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de los vectores y Lucha Antivectorial. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. Suiza. 63 p. p.
- OPS. 1982. Control de vectores con posteridad a los desastres naturales. Publicación Científica no. 419. 2ª Ed. Organización Panamericana de Salud. Washington D. C. 411 p.
- Pino-Rodríguez, S., S. Prieto-González, M. E. Pérez-Rodríguez y J. Molina-Torres. 2004. Género *Erythrina*: Fuente de metabolitos secundarios con actividad biológica. Acta Farm. Bonaerense. 23:252-8.
- Ravi, K, K. Bhavani, P. Sita, B. R. Rajeswara and K. Janardhan R. 2006. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. Bioresource Technology. 97:2481–2484
- Robinson, T. (1979) The evolutionary ecology of alkaloid. In: Hervivores: their interation with secondary plant metabolites. Rosenthal, G., Janzen D. (eds). Academic Press. New York, USA. Pp: 413-448.
- Rodríguez, F. I., 1997. El uso del DDT en las campañas contra el paludismo no causa daños a la salud ni daña el ambiente, asegura la SSA. Crónica 30 de enero. p.p. 29.
- Rosenthal, G. A; M. and R Berenbaum. 1991. Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites. 2a. Acad. Press. San Diego. CA. 468 p.
- Rozendaal, J. A. 1997. Vector control. Methods for use by individuals and communities. World Health Organization. Geneva. 411 p.
- Rukachaisirikul, T., P. Innok and A. Suksamrarn. 2008. *Erythrina* alkaloids and a Pterocarpan from de bark of *Erythrina subumbrans*. J. Nat. Prod. 71:156-158.

- Silva, A., A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales. Una vieja-nueva alternativa en el control de plagas. *Revista Manejo Integrado de Plagas*. (Costa Rica) 66: 4-12.
- Sotelo, A., M. Soto, B. Lucas and F. Giral. 1993. Comparative studies of the alkaloidal composition of two Mexican *Erythrina* species and nutritive value of the detoxified seeds. *J. of Agric. and Food Chem.* 41:2340-2343.
- Soto, H. M. 1989. Structural and chemical studies of *Erythrina* alkaloids. Doctoral Thesis University of Wales, College of Cardiff. 203 p.
- Soto, H. M. 2007. Notas del curso de Fitoquímica. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco. Edo de Méx. 190 p.
- Standley, P. 1926. Trees and shrubs of Mexico. Contributions from the United States National Herbarium. Vol. 23. Smithsonian Institution. United States National Museum. Washington. D.C.
- Thirion, I. J. 2003. El mosquito *Aedes aegypti* y el dengue en México. Bayer Environmental Science. México, Distrito Federal 137 p.
- Valencia, O. C. 1995. Fundamentos de fitoquímica. Ed. Trillas. México. Distrito Federal. pp. 147-170.
- Vargas, R, y A. F. Ubillo. 2001. Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. *Agric. Téc.* (Chile) 61:35-41
- Zampini, I. C., N. Cudmani and M. I: Islas. 2007. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 41:385-393
- Paginas electrónicas donde se tomaron las imágenes de *E. herbacea*

[http://www.sbs.utexas.edu/bio406d/images/pics/fab/erythrina\\_herbacea.htm](http://www.sbs.utexas.edu/bio406d/images/pics/fab/erythrina_herbacea.htm)

[www.arbolesornamentales.com/Erythrinaherbacea.htm](http://www.arbolesornamentales.com/Erythrinaherbacea.htm)

## 9. ANEXOS.

### 9.1. Información acerca de *E. herbacea* obtenida de ejemplares de herbario.

Cuadro 16. Datos de *E. herbacea* obtenidos del Herbario Nacional del Instituto Politécnico Nacional (ENBC) y Herbario MEXU Instituto de Biología. UNAM.

Estado	Municipio	Localización.	Alt. msnm	Vegetación	Descripción	Colector Determinador
Chiapas		Planicie Costera del Golfo a 1.6 km, de regreso a Palenque camino a Villa Hermosa.		Hamaca Tropical	Árbol de 3 m. Semillas rojas, persistentes en vainas abiertas. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973.	Col Robert F Thorne y E. Lathrop. 27-06-70
Guerrero	Guayameo	7 km al Suroeste de San Rafael	1250	Bosque de Pino-encino	Arbusto de 4 m. <i>E. aff. herbacea</i> L.	Cols. F. Medrano Gonzáles, Rosa M. López F. y E. Martínez y Ojeda. 11-73
Michoacan		El Cangrejo, a 16 km al Noreste de la Huacana, carr. a Ario de Rosales	1050		Arbusto de 3 m de alto en fruto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978.	Cols. Mario Sousa y J. C. Soto. Det. M. Sousa 20-08-77
Nuevo León	Linares	Rio Camachito	360	riparia		Cols. C. Yen y E. Estrada. Det. E. Estrada. 6-05-02.
Oaxaca	Distrito de Jamiltepec	A 2 km al Sureste de Pinotepa Nacional	200	Selva mediana cadudifolia (alterada)	Árbol de 3 a 4 m de alto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby Det. B. A. Krukoff 1978. Flor rosada.	Cols. M. Sousa, O. Téllez, M. Ladd y Carmen Soto. 5-02-77
	Distrito de Juquila	A 4 km. al Norte-Noreste de San Gabriel Mixtepec	650	Cañada	Árbol de 3 m. de alto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978.	Cols. Mario Sousa, O. Téllez, A. S. Magallanes y A Delgado. 26-06-77
	Distrito de Pochutla	14 km. al Este de Pochutla	50		Árbol de 15 m de alto, plántula epígea. 1er par opuesto unifoliadas. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby Det B. S.	Cols. Mario Sousa, O. Téllez, A. S. Magallanes y A Delgado.

					Krukoff 1978.	Det. Krukoff. 23-06-77
	Distrito de Tehuantepec	Camino a playa Chipehua, a 37 km al Suroeste de Salina Cruz.	10	Selva mediana con <i>Swetenia humilis</i> y <i>Pterocarpus</i> , <i>Caesalpinia sclereocarpa</i> .	Árbol de 6 m de alto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978.	Cols. Mario Sousa, O. Téllez, A. S. Magallanes y A Delgado. 19-06-77
	Distrito de Tlacolula	A 13 km al Este de Totoloapan	1150	Selva baja con cactáceas columnares	Arbusto con frutos. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978.	Cols. Mario Sousa, O. Téllez, A. S. Magallanes y A Delgado 21-06-77
	Distrito Tuxtepec	A 1 km. al Sureste del entronque Acatlán-Capilla; a 3 km. al Noroeste de Maravillas		Selva alta perennifolia	Arbusto de 2 a 3 m de alto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978. Flor rosa mexicano o fiusha.	Cols. Oswaldo Téllez, Ph. Lamy y A. Romo. 29-03-77
	Distrito de Yautepec	Los Tunillos, a 2 km. al Este-Noreste de la Reforma	700		Árbol de 2 m de alto	Cols. Mario Sousa, O. Téllez, A. S. Magallanes y A Delgado. 20-06-77
	Juchitan	Lázaro Cárdenas camino a Santa María Chimalapa. Coordenadas 16° 35' N y 94° 50' W.	305	Selva húmeda tropical. Pastizal cerca de zona de transición de pinar a savana.	Arbusto. 1 m de alto. Floreando, ramas con pocas hojas. Cáliz verde a verdoso-rojizo. Flor rosa	Col. David Neill. Det. David Neill. 15-02-83
	Santa María Chimalapa Distrito de Juchitán	6 km al Noreste de Lázaro Cárdenas hacia Santa María Chimalapa	300	Econtonía de Encinar y Selva alta perennifolia	Árbol de 1 m. de altura, fruto espinoso. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Flor rosa	Col. L. Torres y R. Cedillo. Det. David Neill. 1983. 23-02-82
	Temascal	Isla frente a la cortina de la Presa Miguel Alemán	150		Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973.	Col. L. González Quintero. Det. B. A. Krukoff. 20-03-64
		Km. 636 Totoloapan	1250		Arbusto de 2 m, hojas verde oscuro, semillas rojas. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978	Col. Boone Halberg. Det. María Teresa Germán. 28-05-61
		56.3 km al Sureste de Jct. De Mitla.	3350	Área árida con abundancia de	Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby.	Cols. Wallace, Le Doux,

		carretera 190.		cactáceas, <i>Acacia</i> , <i>Caiba</i> y <i>Erythrina</i> a un lado del camino hacia el sitio de trabajo.	Det. B. A. Krukoff 1979.	Dunn y Torke. Det. B. A. Krukoff. 15-08-75
		A 6 km. al Sureste de Cacahuatpec	320		Árbol de 5m. de alto. Fruto y semillas deciduos Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978. Nombre común: pipe flor rosa	Cols. Mario Sousa. O. Téllez y A. S. Magallanes. 17-04-76
		5 km al Norte de Matías Romero a lo largo de la carretera 185, en el borde del camino. (Nota: localidad tipo de <i>Erythrina</i> <i>herbacea</i> L. Subs. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. ) Coord. 16 ° 56' N y 95° 00' W.	260		Arbusto de 3 m de alto. Cáliz rojizo- café, carnoso, elíptico, en corte transversal, no lobado. Flor rosa	Col. David Neill. Det. David Neill. 14-04-83
Puebla	Pantepec	Sierra Norte. 2 km. al Este de Mecapalapa.. Coordenadas 20° 7' a 20° 20' N y 97° 33' a 98° 18' W		Selva mediana subperennifolia	Arbusto armado de 3 m. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Nombre común Picocho cimarrón. Flor rosa.	Cols. Pablo Basurto y Gusberto Durán. 16-03-79
	Pantepec	1 km al Este de Mecapalapa. Coordenadas 20° 7' a 20° 20' N y 97° 33' a 98° 18' W		Potrero de Zacate Estrella.	Arbusto de 1 m. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby	Cols. Pablo Basurto y Gusberto Durán. 16-05-79
		+16 km hacia Poza Rica a lo so largo del camino			Cáliz negro muchas semillas bajo este arbusto. Subsp <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973. Árbol con espinas.	Col. B. A. Krukoff Det. B. A. Krukoff.  17-03-70
		Sierra Norte a 41 km al Norte de Mecapalapa. Coordenadas 20° 7' a 20° 20' N y 97° 33' a 98° 18' W		Selva mediana subperennifolia	Árbol de 4 m de alto, con flor y fruto. Flor rosa	Cols. Pablo Basurto y Gusberto Durán. Det. David Nelly 1983. 20-04-80
		Cerca de San Diego; parte alta			Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby.	Col. Faustino Miranda.

		bajando a Huauchinango.			Det. B. A. Krukoff 1972.	30-03-56
Querétaro	Jalpan	3 Km de al Norte de Ayutla. Coordenadas 21° 24'N y 99° 35'W	790	Selva Baja Caducifolia	Árbol de 6 m	Col. Irma Trejo. 6-08-92
	Jalpan	Col. San Martín, a 9 km al Sureste de Jalpan	1400	Vegetación secundaria de <i>Acacia penatula</i> y algunos encino. Suelo negro pedregoso	Árbol de 0.80 a 1 m. escaso	Col. P. Tenorio L. y R. Hernández M. Det. David Nelly 1983. 3-05-82
San Luis Potosí	Aquismon	San Pedro de las Anonas	450	Selva tropical subcaducifolia	Árbol o arbusto. Nombre local Pemoche (silvestre). Parte usada: inflorescencia	Col. G. Arelly González Santillán. Det. Mario Sousa S. 17-04-94
	Cárdenas	Poza azul, cerca de Canoas.	950	Orilla del río y laderas empinadas del cañón.	Arbusto de 3 m de alto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A: Krukoff 19..	Cols. J Rzedwski y Ma. E. Sánchez, R. Cruz y alumnos acompañantes. 15-09-67
	Ciudad Valles	A lo largo del Río Mesillas en selva. Rancho Pago Pago, 3-4- miles al Oeste de Chontal	120		Arbusto de 2.5 m de alto. Cáliz rojo, pétalos rosa oscuro, semillas naranja-rojo.	Cols. P. A. Fryxell y W. R. Anderson. Det. Mario Sousa. 19-05-81
	San Luis Potosí	73 km al Noreste de Ciudad Valles Carretera a San Luis Potosí.		Matorral de transición. Suelo calizo	Arbusto espinoso de 1 m. <i>E. aff. herbacea</i> L. Flor coral	Col. Sergio Za. 24-05-79
	Tamasopo	3 km al Sur de la Estación Rascón	400	Orilla del camino	Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973. Nombre común: patol.	Col Rzedowski Det. Rzedowski. 19-1-56
	Tamazunchale	6.4 km al Norte de Tamazunchale.		Vegetación tropical. Cítricos y mango, orquídeas comunes. Muchos helechos, lianas y epifitas.	Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1979.	D. B. Dunn y Don Dunn. 9-01-72
	Tamazunchale	22 km al Suroeste de Tamazunchale	630	Selva mediana perennifolia.	Planta semipostrada de fruto maduro,	Cols. P. Tenorio y C.

				Suelo amarillo pedregoso	abundancia regular.	Romero de T. Det. David Neill 1983. 6-06-82
Tamaulipas	Aldama	4.5 km al Noroeste del Ejido El Nacimiento (este a unos 25 km Suroeste de Aldama), unos 30 m antes de la primera gruta.	150	Matorral secundario, derivado de Selva baja caducifolia. Suelo negro de rendzina y calizas aflorantes..	Árbol de 3 m de alto. Flor roja	Col. González-Medrano Francisco. Det. F. González. M. 23-07-91
	Aldama	Sierra de Tamaulipas, Región de Rancho las Yucas, 40 km norte, noroeste de Aldama. Coord. 23° 14' N y 98° 10' W.		Selva Tropical decidua - frontera de Milpa	2.5 m de alto (estocón del vástago) "patol" Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973.	Col. Robert L. Dressler. Det. J. Dwyer 1960. 19-07-57
	Aquismon	A 50 km de Ciudad Valles a un lado de la carretera a Huichihuayan	100	Pastizal cultivado de <i>Paspalum sp.</i>		Col. F. Takaki y Col. Det. Y. Herrera A. 20-06-76
	Ciudad Victoria	Cañón del Novillo a lo largo del arrollo. 30 km al Oeste de Ciudad Victoria	450	Riparia	Arbusto de 60 cm Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff y Barneby. Det. Francisco Ramos Marchena 1993. Flor roja	Col. F González Medrano. 10-05-85
	Gómez Farías	Cañón de la Servilleta, 4 km al Oeste de la ladrillera de la Charca.	0	Bosque Tropical Caducifolio	Arbusto de 1.5 m. Flor rosa	Col. Luis Hernández Det. Luis Hernández. 25-03-86
	Gómez Farías	2 Km Suroeste de Ejido El Azteca	350	Bosque tropical subcaducifolio en calizas	Árbol de 2 m frutos jóvenes. Poco frecuente. Subs. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby Flor rosa	Col. Luis Hernández Det. Luis Hernández. 1 2-05-82
	Llera de Canales	Ejido la Libertad 4 km al oeste del el encino	150	Bosque tropical subcaducifolio. Suelo somero	Árbol de 2 m. flor lila	Col. Saúl Rodríguez. Det. Oswaldo Téllez. 23-03-84
	Manuel	El Almagre, 55 km al Norte de Manuel	900	Bosque Pino-encino	Arbusto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff y Barneby. Det. B. A. Krukoff 1979.	Cols. F. González-Medrano, F. Guevara, M.

						Flores y S. Ayala. Det. F. González Medrano
	Nuevo Morelos	6 km al Oeste de Nuevo Morelos	600	Selva baja Caducifolia	Arbusto. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973.	Cols. F. González-Medrano. Det. F. González Medrano. 27-12-68
	Soto la Marina	4 km al Oeste de la Caseta Fiscal de Barra de Ostones	0	Selva baja espinosa	Arbusto 3 m. <i>E. aff. herbacea</i> L. E. <i>herbacea</i> subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff y Barneby. Det. B. A. Krukoff 1972.	Cols. F. González-Medrano, F. Chiang, y E. Martínez. Det. F. G. Medrano. 05-71
	Villa de González	Estación de Microondas de Peña Bernal, en ladera Nordeste	300	Selva baja caducifolia	Arbusto de 2 a 3 m	Cols. F. Gonzáles Medrano y Patricia Hiriart V. Det. F. G. Medrano. 18-05-82
	Xicoténcatl Gómez Farías y Ocampo.	Cerca de La Joya de Salas. Perfil a través de la Sierra Madre Oriental en la región de Gómez Farías	1650	Bosque seco de encino y pino.	Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A Krukoff. 1973	Cols. P. S. Martín y C. Saravia. 1-05-67
		6.4 km de Matamoros-Victoria sobre la carretera al Este de Loreto. Colina de con matorral bajo.			Arbusto erecto de 5 pies de alto. Poco ramificado, y pocas hojas en esta estación. No abundante. Flor rosa.	Cols. Jhon Crutchfield and Marshall C. Johnston. 26-04-60
Veracruz	Actopan	Laguna de la Mancha, borde sureste del manglar. Coordenadas 19° 35' N 96° 22' W	0	Selva baja, borde manglar, secundaria	Arbusto, perenne, 2 m, escaso, fruto moreno, semillas rojas.	Col. A. Novelo. 10-06-77
	Actopan	Centro Experimental la Mancha. Coordenadas 19° 36' N y 96° 22' W	8	Selva mediana perennifolia. Vegetación Secundaria. Suelo arenoso	Arbusto perenne, 2 m., escaso, fruto vaina negra, semilla roja.	Col. B. Guerrero C. Det. B. Guerrero C. 22-06-83
	Cerro azul	Falda de Cerro Azul. Transecto punta limón Cerro Azul Veracruz	170	Encinar. vegetación primaria. Suelo rocoso rojizo	Arbusto perenne. Abundancia regular fruto vaina rojo. 1.5 m. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff	Col. J. Dorantes y Colaboradores. 27-06-72

					& Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978.	
Coatzintla	Palmar de Zapata (Cultura Totonaca)	110	Achual de 1 año, derivado de Selva Mediana subperennifolia	Fruto vaina café, semillas rojas, abundancia regular. Pichoco de monte.	Col M. E. Cortes. Det. David Neill 1983. 11-10-82	
Cuitlahuac	3.5 km al Sur de la Ranchería "Caballo Blanco", al Sureste del Poblado de Atoyac. Coordenadas 18° 51' 00" N 96° 43' 00" W	300	Selva mediana subperennifoli. vegetación secundaria. Suelo café oscuro arcilloso	Arbusto perenne, 1.5 m, abundante fruto negro, semilla roja. Subsp. <i>nigrosae</i> Krukoff & Barneby.	Col. R. Acevedo R. y F. Vázquez. Det. R. Acevedo R. 21-08-85	
Ignacio de la Llave	Ejido Palmas Cuata	60	Vegetación primara. Achual. Suelo negro arcilloso	Árbol perenne, abundancia regular. Fruto rojo. Subsp. <i>nigrosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1972. Flor roja	Col Guadalupe Martínez-Calderón. Det. M. Sousa. 6-11-67	
Lerdo de Tejada	En duna costera de arena cerca de carretera. 2 km al Oeste de Lerdo de Tejada	15		Arbusto 2 m. Corola roja 6/2.5. en el ápice 7/5 en la base. Cáliz pardusco-rojo a verde.	Col. David Neill. Det. David Neill. 30-01-83	
Ozuluama	A 10 km. de la Laja, hacia Ozuluama		Achual. vegetación secundaria. Suelo negro arcilloso.	Arbusto perenne, abundancia escasa. 3.5 m. Subsp. <i>nigrosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978. Flor rosada	Col. F. Chiang Det. F. Chiang. 21-03-71	
Panuco	A 2 Km al sur del Pueblo de Panuco con dirección a Tempoal. Coordenadas 22° 02' N y 98° 11' W	20	Selva baja espinosa. Primara. Suelo negro arcilloso	Arbusto, perenne 1.50 m, escasa, fruto vainas negras, semillas rojas.	Col. C. Gutiérrez B. y E. Montoya. Det. C. Gutiérrez B. 09-06-86	
Región de Misantla.	2 km. de El Raudal rumbo al Sur.	20	Selva baja	Árbol escaso de 4 m. de alto. Subsp. <i>nigrosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1972.	Col. A Gómez P. y R. Riba. 3-02-65	
Salinas	5 k adelante del poblado de Salinas. Coordenadas 18° 55' N y 95° 58' W	50	Selva baja con palmar, secundaria. clima Calido húmedo. Suelo maoreno arenoso	Árbol, perenne, 5 m, regular, fruto moreno semillas rojas. Uso para cercas vivas.	Col. J. I. Calzada. Det. J. I. Calzada. 15-08-81	
Soteapan	Sierra Santa Marta.	420	Acahuil	Árbol .Uso mas	Col. Leonti	

		Popolucas			frecuente como Sahumerio mal de orín. Se utiliza la raíz y la semilla hervida como te. Nombre Popoluca Copa tsen tsen Español Colorín de savana	Det Marco Leonti. 5-02-00
Vega de Alatorre		Cañada de Mesillas, entrando por Santa Ana.	360	Selva baja caducifolia en Encinar. secundaria. Clima Cálido-húmedo. vegetación asociada <i>Sapindus saponaria</i> , <i>Diospyros oaxacana</i> , <i>Quercus oledides</i> . suelo negro pedregoso	Arbusto, 2 m, regular, fruto verde, semillas rojas. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby	Col J. I. Calzada. Det. J. I. Calzada. 24-07-81
Veracruz		Nevaría, Carretera antigua Nacional Xalapa-Veracruz. Coordenadas 19° 11' N y 96° 18' W	50	Selva mediana Subcaducifolia, secundaria. Calido en Acahual. Suelo negro anegado.	Anual, 1 m. regular, fruto vaina café, semillas rojas. Parte elevada central. <i>Erythrina herbacea</i> L. Det. M Sousa 1984.	Col. C. Gutiérrez B. Det. C. Gutiérrez B. 2-09-81
		Camino la Laja-Ozuluama, km 14			Árbol perenne. 3m Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973.	Col Chiang
		Carr. Nautla a Veracruz, 1 km al Sur del raudal	20	Potreros y Bosque encinar. vegetación secundaria. Suelo pedregoso	Arbusto, perenne, 1.5 m, regular, fruto café. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby..	Col. J. J. Fay y J. I. Calzada. Det. John J. Fay. 15-07-77
		Cerro Monte de oro		Encinar. Vegetación primaria	Arbusto perenne 1m, abundante. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1978.	Col. C. Vázquez Yanez.. Det. B. A. Krukoff2 6-06-72
		Colectado por B. A. Krukoff en relación con el Estudio en campo de Especies			Arbol con espinas. Estandarte rosa Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff	Col. B. A. Krukoff. Det. B. A. Krukoff. 6-03-70

	Americanas de <i>Erythrina</i> .			1972.	
	Región de San Andrés Tuxtla: cerca de un pequeño risco. Este de San Andrés Tuxtla			arbusto 3 m alto. semillas naranja-rojas. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1972.	Col. Robert L. Dreesler y Quentin Jones. 7-08-53
	Tres Valle-Las Maravillas	150	Acahual. Suelo profundo arcilloso barro colorado.	Árbol perenne, regular, primario, fruto rojo. Tallo muy espinoso Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973. Nombre común: "Colorín rojo". Flor roja	Col. Guadalupe Martínez-Calderón Det. Biol. M. Sousa. 6-05-67
	5 km adelante del poblado de Salinas. coordenadas 18° 55' N 95° 58' W.	50	Selva baja con palmar. Secundaria. Clima calido-húmedo. Suelo moreno arenoso	Árbol, perenne, 5 m, regular, fruto moreno semillas rojas. Uso para cercas vivas.	Col. J. I. Calzada Det. J. I. Calzada. 15-08-81
	A 5 km al sur de Mata Redonda (Tampico-Tuxpan)	20	Bosque de Quercus	Arbusto de 1-2 m. Semilla roja. Abundancia regular. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1973.	Col. Nevling y Gomez-Pompa Det. B. A. Krukoff. 5-09-67
	11.2 km al Noroeste de Naranjos; ½ km al Oeste de la carretera 180 hacia México. En la Brecha de Estación Microondas	150	Pastizal	Vástago de 4 m. Semillas rojo-anaranjadas.	Cols. Bruce and JoAnn Hansen and Mike Nee. Det. B. A. Krukoff. 10-06-73
	2 km adelante de Tempoal, hacia Panuco		Potrero vegetación secundaria. Suelo pardo arcilloso.	Arbusto perenne 1 m Abundancia regular. Subsp. <i>nigrorosae</i> Krukoff & Barneby. Det. B. A. Krukoff 1972. Flor rosa intenso	Col F. Chiang Det. F. Chiang. 19-03-71
	5 km al Este de Lerdo de Tejada. Borde del camino antes sembradío de caña.. Coord. 18° 37' N y 95° 30' W.	15		Serie de arbustos de <i>Erythrina herbacea</i> con variación en el color de flor. <i>E. folkersii</i> también presente (posible población de híbridos). Arbusto de 3 m. Corola B & K	Col. David Neill. Det. David Neill. 30-01-83

					roja 6/2.5) Cáliz café-rojizo (amarillo-rojizo 3/2.5). Flor roja	
		Km 72 de la carretera. A 4 km al Oeste de Lerdo. Duna costera de arena.			Arbusto de 2 m Corola rosa B & K roja 6/2.5. Cáliz café-rojizo. Variación en color de la flor de <i>E. herbacea</i> . Flor rosa	Col. David Neill. Det. David Neill. 30-01-83
		15 km Al Suroeste de Alvarado en México. Carr. 180. Costa alta con dunas de arena con pasto bajo. Coord 18° 42' N y 95° 38' W	100		Arbusto de 2.5 m. Cáliz café oscuro púrpura. Flor rosa	Col. David Neill. Det. David Neill. 27-01-83