

Actividad repelente y citotóxica del extracto etanólico de *Palicourea guianensis* frente a *Tribolium castaneum*, Herbst

Repellent activity and cytotoxic of the ethanol extract from *Palicourea guianensis* against *Tribolium castaneum*, Herbst

Nayive Pino Benitez^{1,2}, Carlos Manuel Valencia Asprilla²

Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad repelente y citotóxica del extracto etanólico obtenido de *Palicourea guianensis* de la flora del departamento del Chocó, frente al escarabajo rojo de la harina *Tribolium castaneum*, considerado una de las principales plagas de los granos almacenados.

Materiales y métodos: Los ensayos de la actividad repelente fueron realizados por el método de área de preferencia y para evaluar el efecto insecticida por el método de impregnación de papel.

Resultados: El extracto mostró buena actividad repelente contra *T. castaneum*, este efecto fue dependiente de la concentración utilizada, el cual no reportó toxicidad frente a la especie *T. castaneum*.

Discusión: *P. guianensis* no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto al control IR3535. El extracto de *P. guianensis* reportó una leve mortalidad de 9% para la máxima concentración de 4000 µg/ml.

Conclusión: Estos resultados son alentadores porque demuestran el potencial de la flora chocoana como fuente importante de repelentes naturales.

Palabras clave: Flora del Chocó, *Palicourea guianensis*, Repelencia, Toxicidad, *Tribolium castaneum*.

Abstract

Objective: To assess the repellent and insecticidal ethanol extract from plant of the flora of the department of Chocó, in front of the red flour beetle *Tribolium castaneum*, considered a major pest of stored grain.

Materials and methods: Activity assays were performed by the repellent area method preferably, in the case of the insecticidal activity by the method of impregnating paper.

Results: The extract showed repellent activity against *T. castaneum*, this effect was dependent on the concentration used. The extract repellency obtained from *Palicourea Guianensis*.

Discussion: *P. guianensis* differences reported no statistically significant compared to control (IR3535). The extract of *P. guianensis* reported a slight mortality of 9% for the concentration of 4000 mg/ ml.

Conclusion: The results have shown that plant extracts Chocó flora are a major source of repellents, so that could be used for natural insect control.

Keywords: Flora of Chocó, *Palicourea guianensis*, Repellency, Toxicity, *Tribolium castaneum*.

Introducción

El aumento de la producción agrícola ha generado la búsqueda de nuevas técnicas que permitan desarrollar un buen manejo de los granos almacenados y otros productos agrícolas que garanticen el uso de estos recursos para las generaciones futuras y a su vez ayuden al mantenimiento de la buena salud en los humanos (Olivero-Verbel *et al.*, 2009). Los daños que ocasionan los in-

sectos y otras plagas de los granos, en productos alimenticios almacenados, son en ocasiones incalculables. De acuerdo con lo reportado por Silva *et al.* (2006), las pérdidas generadas por estos organismos antes de la cosecha y en el almacenamiento, oscila entre 20% y 80% del total anual producido, sobre todo porque afectan la calidad y el valor comercial del producto (Saini & Rodríguez, 2004; Vergara, 1994). Para su control por lo general se utilizan compuestos

¹ Grupo Productos Naturales, Universidad Tecnológica del Chocó, Quibdó, Colombia.
e-mail: nayivepino@gmail.com

² Centro Nacional de Investigaciones para la Agroindustrialización de Especies Vegetales Aromáticas y Medicinales Tropicales (Bio-Red-CO-CENIVAM), Bucaramanga, Colombia. e-mail: camava@hotmail.com

Fecha de recibido: Agosto 6, 2013

Fecha de aprobación: Septiembre 14, 2013

DOI: <http://dx.doi.org/10.18636/riutch.v33i1%20Ene-Jun.412>

químicos (FAO, 2002; Bourguet *et al.*, 2000) conocidos como plaguicidas. Sin embargo, su uso indiscriminado ha generado un problema de contaminación por sus efectos negativos irreversibles en la mayoría de los ecosistemas, causando problemas toxicológicos en animales, plantas y ser humano. Debido a sus propiedades físico-químicas, aumenta su persistencia lo cual trae como consecuencia el surgimiento de nuevas generaciones resistente a los plaguicidas (Céspedes & Alarcón, 2011; Limoe *et al.*, 2007; Rosegrant *et al.*, 2007; Riebeiro *et al.*, 2003). A partir de la necesidad por encontrar nuevas alternativas naturales para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos, aparecen los compuestos bioactivos presentes en las plantas ofreciendo seguridad al medio ambiente y una opción agronómica eficiente (González *et al.*, 2002; Calderón *et al.*, 2001). Muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas importantes contra insectos (Céspedes & Alarcón, 2011; Ducrot, 2005); entre los más importante están terpenos, lignanos, alcaloides, esteroides, sesquiterpenos, aldehídos y ácidos grasos (Vázquez *et al.*, 2007; Ducrot, 2005; Dixon, 2001). Hasta la fecha son pocos los estudios donde se ha evaluado la actividad repelente y/o insecticida de los extractos obtenidos de plantas endémicas. Sin embargo, se han reportado algunos extractos promisorios como repelentes naturales como es el caso de las especies del género *Palicourea*, cuyos componentes químicos principales son: fenilpropánoides, monoterpénoides, taninos y flavonoides (García *et al.*, 2009; Pino, 2009; Dhawan *et al.*, 2004; Reginatto *et al.*, 2001; Armason *et al.*, 1987). Además, extractos obtenidos de esta planta se han informado como antibacterianos (Sánchez *et al.*, 2000; Pino, 2009).

En Colombia se ha estimado que por lo menos existe alrededor de 50 plagas de insectos de orden Coleópteros y Lepidópteros (Vergara, 1994). La especie de mayor importancia y ampliamente

distribuida es *Tribolium castaneum*, especie cosmopolita que infesta principalmente harinas y otros sitios derivados de la molienda en depósitos, almacenes y silos (Olivero-Verbel *et al.*, 2009), reduciendo la cantidad del producto apto para el consumo (Stefanazzi *et al.*, 2006; Dal Bello & Padín, 2006). Para el control de estos se utilizan insecticidas sintéticos. De igual forma algunos extractos y aceites esenciales se han evaluado para el control de esta especie (Caballero-Gallardo *et al.*, 2011; Nerio *et al.*, 2010; Olivero-Verbel *et al.*, 2009; Gutiérrez *et al.*, 2008; Jbilou *et al.*, 2006; Pascual-Villalobos, 1998). A partir de las necesidades por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos, en este estudio se evaluó la acción repelente e insecticida del extracto etanólico obtenido de la especie *P. guianensis* contra *T. castaneum*, una plaga de productos almacenados.

Materiales y métodos

Insectos. Para los bioensayos se utilizó la especie de *T. castaneum*, Herbst (Coleóptera: Tenebrionidae), conocida comúnmente como gorgojo castaño de la harina; este organismo se obtuvo del afrecho de maíz infectado por esta plaga en locales comerciales del mercado municipal de la ciudad de Cartagena, Colombia. En el laboratorio esta especie fue cultivada en recipientes de vidrios cubiertos por una malla de plástico, con el fin de permitir el libre paso del aire y evitar que se escaparan. Las cepas se mantuvieron bajo condiciones controladas (fotoperíodos de 10:14 h, luz: oscuridad, temperatura de 26±2°C y humedad relativa entre 70% y 85%). Para los ensayos se seleccionaron organismos adultos. Además, se ubicaron en los frascos de avena molida utilizada como sustrato (Olivero-Verbel *et al.*, 2009; Caballero-Gallardo *et al.*, 2011).

Determinación de la actividad repelente del extracto etanólico. La actividad repelente del

extracto vegetal se evaluó mediante el método de área de preferencia (Tapondjou *et al.*, 2005). Los insectos se ubicaron en el interior de la caja de Petri que contenía un papel filtro cortado por la mitad, colocando sobre una de las mitades la solución a evaluar (extracto vegetal) y sobre la otra el respectivo vehículo (acetona). Para las evaluaciones se emplearon concentraciones de 100, 150, 200, 250, y 300 µg/ml. Como control positivo se utilizó una formulación repelente comercial (*Stay off*), que contiene como ingrediente activo etil-butil.acetil-aminopropiano (IR3535) al 15%. Inicialmente se ubicaron en la parte central de cada caja de Petri 20 insectos adultos de la especie *T. castaneum*, contando los organismos presentes en cada mitad a las 2 y 4 horas de exposición. Los datos se registraron como porcentaje de repelencia (PR) por medio de la siguiente fórmula:

$$PR (\%) = (Nc - Nt) / (Nc + Nt) * 100$$

donde Nc es el porcentaje de gorgojos presentes en la mitad no tratada

Nt porcentaje de gorgojos presente en la mitad tratada

Valores positivos (+) indican repelencia y valores negativos (-) indican atracción

Determinación de la actividad insecticida del extracto etanólico. La actividad insecticida se evaluó mediante el método de impregnación de papel propuesto por Tapondjou *et al.* (2005). Se aplicó al papel de filtro 1 ml de solución del extracto y como control se utilizó acetona. El solvente fue evaporado durante 10 minutos. Cada papel de filtro fue ubicado dentro de una caja Petri de vidrio de 9 cm de diámetro en cuyo interior se liberaron 20 insectos de la especie *T. castaneum*. Luego se taparon y se dejaron bajo oscuridad a una temperatura de 26±2°C y una humedad relativa entre 70% y 85%. Para los ensayos se emplearon cuatro concentraciones

1000, 2000, 3000 y 4000 µg/ml. La mortalidad de los insectos se registró a las 24, 48 y 72 horas de exposición. Cada concentración de extracto vegetal fue evaluada tres veces con una repetición.

Análisis de los datos. Los resultados se reportaron como la media del porcentaje de repelencia e insecticida ± error estándar (X± SE). Para la actividad repelente el número de insectos presentes en cada mitad del papel filtro se comparó mediante la prueba t-pareada. Se utilizó un Anova de variables múltiples para observar la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre el extracto y el control a diferentes concentraciones, apoyado de una prueba de Tukey (Prueba de comparación múltiple) a través del programa Statgraphics Centurión xv.

Resultados

Actividad repelente. Los resultados de la actividad repelente del extracto vegetal y el repelente comercial contra la especie *T. castaneum* aparecen en la Tabla 1. El extracto de *P. guianensis* a la concentración más baja ensayada, mostró actividad atrayente en los dos tiempos de exposición con valores similares (-57% y -67%). A las concentraciones entre 100 y 300 µg/ml, la repelencia del extracto vegetal varió entre 15% y 87%.

Al realizar el análisis estadístico de la actividad repelente de los extractos y el repelente comercial, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Es de interés anotar que la repelencia generada tanto para los extractos vegetales como para el producto comercial no presentó diferencias significativas cuando fueron comparados los dos tiempos de exposición.

Actividad insecticida. La Tabla 2 resume el porcentaje de mortalidad de los insectos expuestos al extracto vegetal de *P. guianensis*, frente a la especie *T. castaneum*.

Tabla 1. Porcentaje de repelencia obtenido para el extracto y el repelente comercial (IR3535) frente a *T. castaneum*, a diferentes tiempos de exposición

Extracto vegetal	Concentración (µg/ml)	% repelencia según tiempo de exposición (horas)	
		2	4
<i>Palicourea guianensis</i>	100*	-67±4	-57±9
	150*	15±2	28±4
	200*	50±10	45±6
	250*	63±2	53±2
	300*	77±2	63±3
Control IR3535	100*	48±7	48±6
	150	53±12	53±6
	200*	62±7	62±7
	250*	73±8	75±4
	300*	83±2	80±4

* Diferencia estadísticamente significativa entre el número de organismos en las áreas tratadas y no tratadas (p<0.05).

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad de *Tribolium castaneum* expuesto a extracto etanólico de *P. guianensis*

Extracto vegetal	Concentraciones µg/ml	% mortalidad según tiempo de exposición (horas)		
		24	48	72
<i>Palicourea guianensis</i>	1000	1±0	1±0	1±0
	2000	2±0	3±0	3±0
	3000	3±1	3±1	4±1
	4000	5±1	6±1	9±2

Discusión

Los resultados obtenidos muestran que el extracto de *P. guianensis* produce un efecto repelente frente a la especie *T. castaneum*. Estos resultados pueden estar soportados en la presencia de compuestos bioactivos presentes en este género. El género *Palicourea* presenta contenido alto de coumarinas, ácidos benzoicos, terpenos y alcaloides indólicos principalmente los que contienen una unidad secologanínica, como el palicoiseo, la croceaína y el lialosídio (Düsman *et al.*, 2003; Kato *et al.*, 2000), que son los constituyentes principales responsables de algunas actividades biológicas, entre ellas, antibacteriana, anti-tumoral, anti-inflamatoria, anti-viral (Düsman *et al.*, 2003). Según los reportes, los triterpenos

encontrados en algunas especies pertenecientes a la familia Rubiaceae, son compuestos de baja toxicidad, pero reportan tener buena funcionalidad como insecticida (Calderón *et al.*, 2001; Arnason *et al.*, 1987). Otras investigaciones informan que poseen compuestos Kalata B1 y Kalata B2 que presentan actividad insecticida, debido a la presencia de minipéptidos cíclicos conocidos como ciclótidos, considerados que intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas contra insectos de una forma natural (Jennings *et al.*, 2005), lo que puede soportar los resultados obtenidos por el extracto evaluado en esta investigación.

Al evaluar la actividad insecticida del extracto a través del método de impregnación, se observó

que el mismo, solo presenta leve toxicidad (9%) a la mayor concentración (4000 mg/ml) frente a la especie *T. castaneum*.

Conclusión

El extracto vegetal de *P. guianensis* no se encontró tóxico en adultos de la especie *T. castaneum*. Este extracto solo produjo una leve acción insecticida en adultos de la especie *T. castaneum* con un porcentaje de mortalidad de 9% en la concentración más alta (4000 µg/ml).

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo brindado por los profesores Jesús Olivero y Karina Caballero del grupo de investigación de Química Ambiental y Computacional de la Universidad de Cartagena y a Colciencias y CENIVAM como fuente financiadora del proyecto.

Literatura citada

- Amason JT, Philogéne BJR, Donskov Kubo I. 1987. Limonoids from the Meliaceae and Rutaceae reduce feeding, growth and development of *Ostrinia nubilalis*. *Entomol Exp Appl*. 43: 221-6.
- Bourguet D, Genissel A, Raymond M. 2000. Insecticide resistance and dominance levels. *J Econ Entomol*. 93: 1588-95.
- Caballero-Gallardo K, Olivero-Verbel J, Stashenko E. 2011. Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* Herbst. *J Agricult Food Chem*. 59 (5): 1690-6.
- Calderón JS, Céspedes CL, Rosas R, Gómez G, Salazar JR, Lina L, et al. 2001. Acetylcholinesterase and insect growth inhibitory activities of *Gutierrezia microcephala* on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith. *Z Naturforsch C*. 56: 382-94.
- Céspedes C, Alarcón J. 2011. Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 10 (3): 175-81.
- Dal Bello G, Padín S. 2006. Olfatómetro simple para evaluar la actividad biológica de aleloquímicos vegetales en *Tribolium castaneum*, Herbst. *Agrociencia*. 2: 23-6.
- Dhawan K, Dhawan S, Sharma A. 2004. Passiflora: a review update. *J Ethnopharmacol*. 94: 1-23.
- Dixon R. 2001. Natural products and plant disease resistance *Nature*. 441: 843-7.
- Ducrot PH. 2005. Organic chemistry's contribution to the understanding of biopesticidal activity of natural products from higher plants. pp. 47-58. In: Regnault, RC, Philogéne BJJ, Vincent C (eds.). *Biopesticides of plant origin*. Paris, Andover: Lavoisier and Intercept, Ltd. 313 pp.
- Düsman LT, Marinho T. 2003. Estudo químico da planta *Palicourea crocea* (SW.) ROEN. ET SCHL. (Rubiaceae). 2002. XI Encontro Anual de Iniciação Científica.
- FAO/Países Bajos. *Carácter multifuncional de la agricultura y la tierra*. 2002. [fecha de consulta: abril de 2012]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/X2777S/X2777S00.htm>
- García CM, Kim N, Bich N, Tillan J, Romero JA, López OD, Fuste V. 2009. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L. *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. *Rev Cubana Plant Med*. 14 (2): 1-7.
- González S, Pabón ML, Carulla J. 2002. Effects of tannins on *in vitro* ammonia release and dry matter degradation of soybean meal. *Arch Latinoam Prod Anim*. 10: 97-101.
- Gutiérrez FS, Stefazzi N, Purray AP, Ferrero AA. 2008. Bioactividad de extractos de hojas de *Aloysia polystachya* (Verbenaceae), en larvas y adultos de *Tribolium castaneum*, Herbst. *Bol San Veg Plagas*. 34: 501-8.
- Jbilou R, Ennabile A, Sayan F. 2006. Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). *African J Biotechnol*. 5 (10): 936-40.
- Jennings C, Rosengren KJ, Norelle L, Daly L, Plan M, Stevens J, et al. 2005. Isolation, solution and Insecticidal Activity of Kalata B2, a Circular Protein with a Twist: Do Möbius Strips Exist in Nature? *Biochemistry*. 44: 851-60.
- Kato L, De Oliveira C, Do Nascimento CA, Lião LM, Silva CC, Abe-Tanaka CM. 2000. Alcaloides de *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. *Sociedade Brasileira de Química (SBQ)*. 38: 68-73.
- Limoe M, Enayati AA, Lodonni H, Vatandoost H, Baseri H, Oshaghi MA. 2007. Various mechanisms responsible for permethrin metabolic resistance in seven field-collected strains of the German cockroach from Iran, *Battella germanica* (L) (Dictyoptera: Blattellidae). *Pestic Biochem Physiol*. 87 (2): 138-46.
- Nerio L, Olivero J, Stashenko E. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technol*. 101: 372-8.

- Olivero-Verbel J, Caballero K, Jaramillo B, Stashenko EE. 2009. Actividad repelente de los aceites esenciales de *Lippia origanoides*, *Citrus sinensis* y *Cymbopogon nardus* cultivadas en Colombia frente a *Tribolium castaneum*, Herbst. *Salud UIS*. 41: 244-50.
- Pascual-Villalobos MJ. 1998. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bol San Veg Plagas*. 24: 143-54.
- Pino-Benitez N. 2009. *Plantas útiles del Chocó. Parte I: Extractos*. Medellín: Editorial Uryco; 312 pp.
- Reginatto F, Kauffman C, Schripsema J, Guillaume D, Gosmann G, Schenkel EP. 2001. Steroidal and triterpenoidal glucosides from *Passiflora alata*. *J Braz Chem Soc*. 12: 32-6.
- Riebeiro BM, Guedes RNC, Oliveira EE, Santos JP. 2003. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J Stored Prod Res*. 39: 21-31.
- Rosegrant MW, Ringler C, Benson T, Diao X, Resnick D, Thurlow J. et al. 2006. *Agriculture and achieving the millennium development goals*. Washington, DC: The World Bank, Agriculture & Rural Development Department.
- Rosegrant MW, Msangi S, Sulser T, Ringler CL. 2007. *Future scenario for agriculture: Possible future to 2030 and key trends in agriculture growth*. Background paper for the World Development Report 2008, Development in a Changing Climate. 2008.
- Saini E, Rodríguez SM. 2004. *Insectos perjudiciales a los productos almacenados*. Santiago de Chile: Instituto de Microbiología y Zoología; 56 pp.
- Sánchez E, Leal I, Fuentes L, Rodríguez C. 2000. Estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (albahaca blanca). *Rev Cubana Farm*. 4 (3): 187-95.
- Silva G, Gallo RH, Tapias VM, Osses RF, Casals BP, Bustos FG. 2006. Evaluación de boldo (*Peumus boldus* Molina) y cal para el control de *Sitophilus zeae* maismotschulsky. *Agrociencia*. 40 (2): 219-28.
- Stefanazzi MM, Gutiérrez T, Standler NA, Bonni AA, Ferrero . 2006. Actividad biológica del aceite esencial de *Tagetes termiflora* Kunth (Asteraceae) en *Tribolium castaneum*, Herbst (Insecta, Coleoptera, Tenebrionidae). *Bol San Veg Plagas*. 32: 439-47.
- Tapondjou L, Ader C, Fontem DA, Bouda H, Reichmut C. 2005. Bioactivities of cimol and essential oils of *Cupressus sempervivens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J Stored Prod*. 41 (1): 91-102.
- Vásquez FF, Miranda HM, Monforte GM, Gutiérrez CG, Velásquez GC, Nieto PY. 2007. La biosíntesis de capsicinoides, el principio picante del Chile. *Rev Fitotec Mex*. 30 (4): 353-60.
- Vergara R. 1994. *Artrópodos plagas de los granos, semillas y derivados almacenados*. Guías Talleres Prácticos Entomología Económica N° 8. Medellín: Universidad Nacional de Colombia; 18 pp.