

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE *Solanum sisymbriifolium*, *Cestrum parqui* Y *Chenopodium album* SOBRE ADULTOS DE *Tribolium castaneum* (COLEOPTERA, TENEBRIONIDAE)¹

BRUNILDA RAFAEL²; GRACIELA MAREGGIANI²; ADELA FRASCHINA³ y G. BILOTTI³

Recibido: 27/04/99

Aceptado: 11/05/00

RESUMEN

Se evaluó la actividad insecticida de extractos obtenidos de tres plantas, tóxicas para el ganado, nativas de América del Sur: *Solanum sisymbriifolium* (revienta caballo), *Cestrum parqui* (duraznillo negro) y *Chenopodium album* (quinoa), sobre adultos de *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) cepa CIPEIN. Se utilizó el método de extracción semicontinua Soxhlet para extraer fracciones de distinta polaridad, utilizando como solventes etanol (Et), hexano (Hex) y cloroformo (Cl). Los tratamientos, con cuatro repeticiones, fueron: 1) *S. sisymbriifolium* ext. Et, 2) *S. sisymbriifolium* ext. Cl, 3) *S. sisymbriifolium* ext. Hex, 4) *C. parqui* ext. Et, 5) *C. parqui* ext. Cl, 6) *C. parqui* ext. Hex, 7) *C. album* ext. Et, 8) *C. album* ext. Cl, 9) *C. album* ext. Hex, 10) Testigo con Et, 11) Testigo con Cl y 12) Testigo con Hex. Cada repetición consistió en un recipiente de vidrio de 100 ml conteniendo la dieta (harina de trigo 0000) tratada con cada extracto 1000 ppm en los tratamientos 1 a 9, o con cada solvente en los testigos (10 a 12). Cuarenta y ocho horas después se introdujeron diez adultos de *T. castaneum* en cada recipiente, manteniéndolos en cámara controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$ y $65 \pm 5\%$ HR) durante toda la experiencia. Se registró la supervivencia cada diez días, durante 110 días, cuando la mortalidad en los controles superó el 20%, valor máximo admitido en este tipo de bioensayo. El ANVA de las pendientes de regresión de sobrevivientes a lo largo del ensayo indica diferencias significativas entre especies vegetales y el testigo ($p < 0,05$), siendo los extractos de *C. parqui* los más efectivos. El ANVA de sobrevivientes al finalizar el experimento también indica que *C. parqui* es la más tóxica de las tres especies ($p \leq 0,05$).

Palabras clave. *Cestrum parqui*, *Solanum sisymbriifolium*, *Chenopodium album*, insecticidas naturales, *Tribolium castaneum*.

DETERMINATION OF THE INSECTICIDE ACTIVITY OF *Solanum sisymbriifolium*, *Cestrum parqui* AND *Chenopodium album* AGAINST *Tribolium castaneum* ADULTS (Coleoptera, tenebrionidas)

SUMMARY

The insecticide activity of extracts from three plants, toxic to cattle, native from South America: *Solanum sisymbriifolium* (revienta caballo), *Cestrum parqui* (duraznillo negro) and *Chenopodium album* (quinoa), was tested against *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) adults CIPEIN strain. Soxhlet semicontinuous method was used to extract different polarity fractions, using as solvents: ethanol (Et), hexane (Hex) and chloroform (Cl). The treatments, with four replicates, were: 1) *S. sisymbriifolium* Et ext., 2) *S. sisymbriifolium* Cl ext., 3) *S. sisymbriifolium* Hex ext., 4) *C. parqui* Et ext., 5) *C. parqui* Cl ext., 6) *C. parqui* Hex ext., 7) *C. album* Et ext., 8) *C. album* Cl ext., 9) *C. album* Hex ext., 10) Control Et, 11) Control Cl and 12) Control Hex. Each replicate consisted of a 100 ml glass vial containing the diet (white flour 0000) treated with each extract 1000 ppm in treatments 1 to 9, or with each solvent in the controls (10 to 12). Fortyeight hours later, ten *T. castaneum* adults were introduced in each vial, maintaining them in a controlled chamber ($22 \pm 2^\circ\text{C}$ and $65 \pm 5\%$ RH) during the whole experience. Survival was registered every ten days during 110 days, when controls mortality reached values higher than 20%, maximum value admitted in this kind of bioassay. Regression slope ANVA of survivors along the assay indicates significant differences among plant species and the control ($p \leq 0,05$) being *C. parqui* extracts the most effective. ANVA of survivors at the end of the experiment shows that *C. parqui* is the most toxic of the three plant species, too ($p \leq 0-05$).

Key words. *Cestrum parqui*, *Solanum sisymbriifolium*, *Chenopodium album*, natural insecticides, *Tribolium castaneum*.

¹Trabajo presentado en las X Jorn. Fitosan. Argent., Jujuy, abril 1999.

² Cátedra de Zool. Agr. FAUBA. Avda. S. Martín 4453 (1417) Bs.As. email: mareggia@mail.agro.uba.ar

³ Cátedra de Bioquímica. FAUBA

INTRODUCCIÓN

Así como la agricultura refleja la coevolución del cultivo con el medio ambiente (Altieri, 1984), la resistencia de las plantas al ataque de los herbívoros refleja su coevolución con éstos, la cual las llevó a producir aleloquímicos que las protegen de plagas y enfermedades (Mareggiani *et al.*, 1996).

Debido a la presión de selección a la que están sometidas, las malezas han desarrollado barreras antiherbívoros, que las convierten en importantes fuentes de metabolitos tóxicos (Rosenthal y Berenbaum, 1991). La investigación de estos metabolitos con propiedades como insecticidas botánicos es importante pues su empleo no sólo reduce la posibilidad de aparición de resistencia en las poblaciones de insectos, sino que además representa un método de manejo de plagas menos contaminante del ambiente y de los alimentos.

Por tal motivo, para este trabajo, se seleccionaron tres malezas que poseen actividad tóxica contra herbívoros vertebrados (Cabrera, 1968; Ragonese y Milano, 1984): *Solanum sisymbriifolium* (revienta caballo), *Cestrum parqui* (duraznillo negro) y *Chenopodium album* (quinoa), investigando si sus propiedades tóxicas también se manifiestan contra insectos, organismos animales con características fisiológicas e inmunológicas diferentes de las de los vertebrados herbívoros. Se analizó la actividad insecticida de sus extractos etanólicos, clorofórmicos y hexánicos sobre *Tribolium castaneum*, una de las plagas de granos de mayor importancia económica (Pascual-Villalobos, 1998), buscando determinar el modo de extracción más eficiente de la fracción con propiedades tóxicas. Los estudios aquí expuestos no estuvieron orientados a la identificación de las sustancias activas.

MATERIALES Y METODOS

a) Material vegetal

Se utilizó la parte aérea y subterránea de *Solanum sisymbriifolium* (Solanaceae), la parte aérea (incluyendo flor y fruto) de *Cestrum parqui* (Solanaceae) y la parte aérea (incluyendo flor y fruto) y subterránea de *Chenopodium album* (Chenopodiaceae). Todas las muestras se recogieron en forma simultánea, en el mes de mayo, en terrenos aledaños a la Facultad de Agronomía de la UBA.

b) Obtención de los extractos

Se partió de 2 gramos de material vegetal de cada muestra efectuando la extracción semicontinua tipo Soxhlet, utilizando como solventes 50 ml de etanol, hexano o cloroformo (Scramin, 1987) según el tratamiento, con el objeto de obtener de la muestra vegetal fracciones de diferente polaridad que incluyeran aleloquímicos con diferente potencial insecticida. Los extractos así obtenidos fueron llevados a sequedad a presión reducida en evaporador rotativo marca Büchi, manteniéndolos posteriormente a -17°C hasta el momento de su utilización, en que se los rediluyó en 1 ml de sus respectivos solventes (salvo los de duraznillo negro/hexano y quinoa/hexano que se rediluyeron en acetona debido a la baja solubilidad de los residuos en hexano) y 0,02 ml de Tween a una concentración de 1 mg de extracto/ml de solvente.

c) Determinación de actividad biológica

Se utilizaron adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera, Tenebrionidae), cepa CIPEIN, de 15 días de edad. Se efectuaron doce tratamientos con cuatro repeticiones, dispuestos en un diseño de bloques al azar. Los tratamientos fueron: 1) revienta caballo ext. etanol, 2) revienta caballo ext. cloroformo, 3) revienta caballo ext. hexano, 4) duraznillo negro ext. etanol, 5) duraznillo negro ext. cloroformo, 6) duraznillo negro ext. hexano, 7) quinoa ext. etanol, 8) quinoa ext. cloroformo, 9) quinoa ext. hexano, 10) Testigo con etanol, 11) Testigo con cloroformo y 12) Testigo con hexano.

La dieta, consistente en 2 gramos de harina de trigo Tipo 0000 más 2 ml del respectivo extracto a una concentración de 1000 ppm en los tratamientos 1 a 9, y en igual cantidad de harina más 2 ml del respectivo solvente en los testigos, fue colocada en sendos recipientes de vidrio de 100 ml. Luego de airear durante 48hs, para asegurar la evaporación total del solvente, se introdujeron 10 adultos de *T. castaneum* en cada recipiente, cubriendo los recipientes con gasa, y llevándolos a cámara de cría con condiciones controladas ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ HR) durante toda la experiencia. El experimento se prolongó 110 días, registrando cada 10 días el número de sobrevivientes. Se consideraron muertos a los ejemplares que aún ante estímulos provocados por una pinza en varias partes del cuerpo no reaccionaban. La experiencia se interrumpió a los 110 días debido a que en ese momento los valores de mortalidad en los testigos superaron el 20%, aceptado como valor máximo en este tipo de bioensayos (Lagunes-Tejeda y Vazquez-Navarro, 1994).

d) Análisis de los resultados

Los resultados de supervivencia (y) de cada unidad experimental a través del tiempo fueron transformados según $(y+1)^{0,5}$. Se obtuvieron las rectas de regresión correspondientes a cada uno de los tratamientos por

medio del análisis "estándar en dos pasos" (Standard two stages= STS) (Feldman, H., 1988). Se efectuaron los análisis de varianza y las pruebas de comparaciones múltiples de Newman-Keuls de las pendientes de regresión (b) de la supervivencia a lo largo del ensayo, y del número de sobrevivientes al finalizar el mismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza de la pendiente de regresión (b) de la supervivencia a lo largo del ensayo (Cuadro N° 1) muestra que hubo diferencias significativas entre las tres especies vegetales ensayadas y el testigo ($p \leq 0,05$), pero que los solventes utilizados en la extracción y su interacción con las plantas no causaron diferencias significativas. Además, al comparar la efectividad de los extractos de las tres especies, se muestra que los obtenidos a partir de duraznillo negro fueron los que causaron mayor mortalidad, lo que se evidencia en una pendiente de regresión (b) significativamente diferente ($p \leq 0,05$) a la del testigo y a la de los extractos de quinoa y de revientacaballo.

El análisis de varianza del número de sobrevivientes al finalizar el ensayo (Cuadro N° 2) muestra

diferencias significativas entre plantas, no así entre extractos ni en su interacción con las plantas. El análisis de los resultados del efecto planta indican que el número de individuos sobrevivientes en ese momento resultó significativamente menor ($p \leq 0,05$) en todos los extractos con respecto al testigo, correspondiendo la actividad más tóxica a los extractos de duraznillo negro.

Estos resultados presentan similitud con los registrados por otros autores que evaluaron la actividad de extractos de *C. parqui* sobre algunos organismos de origen animal. Esta especie, además de ser tóxica para el ganado, se menciona como molusquicida (Emman, 1990) y bactericida (Lazo y Bravo, 1993), habiéndose mostrado su efecto tóxico sobre larvas de dípteros (Rodríguez Hernández y Lagunes Tejeda, 1987), y también afectando la longevidad y el crecimiento de *Schistocerca gregaria* (Orthoptera, Acrididae) (Ammar, 1995). Otra especie muy afín, *Cestrum anagyris*, ha sido utilizada para combatir mosquitos por sus propiedades insecticidas (Rodríguez Hernández y Lagunes Tejeda, 1989).

El hecho de que los resultados expuestos hayan correspondido a los tres extractos procedentes de

Cuadro N° 1:A) Análisis de varianza de la pendiente de regresión (b) de la supervivencia a lo largo del ensayo ($p \leq 0,05$)

Fuente de variación	S.C.	g.l.	Cuadrado medio	F	Nivel de signif.
Efectos principales					
A: ANVA. planta	0,0006436	3	0,0002145	9,234	0,0001
B: ANVA. extracto	4,656E-05	2	2,32783E-05	1,002	0,3772
Interacciones					
AB: planta x extracto	0,0001959	6	3,2648E-05	1,405	0,2395
Error	0,0008364	36	2,323E-05		
Total (corregido)	0,0017224	47			

B) Análisis de comparaciones múltiples de la pendiente de regresión (b) para el efecto planta
Método: Newman-Keuls ($p \leq 0,05$)

Planta	N° tratamientos	Medias de tratamientos	Grupos Homogéneos*
Testigo	12	-0,004325	a
Quinoa	12	-0,008496	b
Revienta caballo	12	-0,009375	b
Duraznillo negro	12	-0,014617	c

* Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p \leq 0,05$)

Cuadro N° 2: A) Análisis de variancia de los datos de supervivencia de la última observación ($p \leq 0,05$)

Fuente de variación	S.C.	g.l.	Cuadrado medio	F	Nivel de signif.
Efectos principales					
A: ANVA. planta	9,8104995	3	3,2701665	11,871	0,0000
B: ANVA. extracto	0,3342388	2	0,1671194	0,607	0,5507
Interacciones					
AB: planta x extracto	2,4450661	6	0,4075110	1,479	0,213
Error	9,9172728	36	0,2754798		
Total (corregido)	22,5070772	47			

B) Análisis de comparaciones múltiples de los datos de supervivencia de la última observación para el efecto planta Método: Newman-Keuls ($p \leq 0,05$)

Planta	N° tratamientos	Medias de tratamientos	Grupos Homogéneos *
Testigo	12	2,8391745	a
Quinoa	12	2,3388867	b
Revienta caballo	12	2,0987230	b
Duraznillo negro	12	1,5832726	c

* Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos ($p \leq 0,05$)

duraznillo negro hace suponer que con cualquiera de los tres solventes se extrajeron metabolitos con actividad insecticida en *T.castaneum*. Por otro lado, considerando que tanto los extractos de revienta caballo como los de quinoa fueron menos efectivos que los de duraznillo negro, podría pensarse que las dos primeras especies vegetales no presentan en su composición el o los metabolitos secundarios responsables de la acción insecticida, o bien que se encuentran en menor concentración.

Cestrum parquies una de las especies con mayor diversidad de compuestos químicos aislados. Se sabe que cuenta en su composición química con alcaloides y con saponinas tóxicas al ganado, distribuidas en diferentes partes de la planta, las cuales podrían ser responsables de la actividad insecticida (Ragonese y Milano, 1984; Riaz, 1993). Dentro de estos metabolitos, las saponinas (tigogenina, monohidroxisapogenina, digalogenina, gitogenina y digitogenina) son sustancias de polaridad intermedia (Merck, 1996) que no se hallan presentes ni en revienta caballo ni en quinoa, por lo cual cabría la hipótesis de que la acción insecticida se debiera a la presencia de estos compuestos en la planta.

Se hace por lo tanto necesario continuar con el

estudio químico de esta especie con el fin de lograr el aislamiento del componente con actividad biocida, determinando además de su actividad biológica sobre ésta y otras especies de insectos, su efecto residual y su incidencia sobre las características organolépticas de los alimentos tratados.

CONCLUSIONES

La evolución de la supervivencia a lo largo del ensayo y el número final de sobrevivientes mostraron que las tres especies vegetales (revienta caballo, duraznillo negro y quinoa) presentaron diferencias significativas con el testigo, independientemente del solvente utilizado.

Los estudios realizados sugieren que el duraznillo negro sería la especie más tóxica.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Agr. Horacio F. Rizzo, Profesor Titular de la Cátedra de Zoología Agrícola FAUBA, por la corrección de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- ALTIERI, A. 1984 . Agroecología. Bases científicas de la agricultura alternativa. Cetal.Chile. 170 p.
- AMMAR, M. 1995. Action des extraits decomposés des feuilles de *Cestrum parqui* et de *Olea europea* sur la longevité et la croissance du criquet pelerin *Schistocerca gregaria*. Meded. Facult. Landbouwk. Toegep.Biolog.Wetenschap., *Universitait-Gent*. 60 (3): 831-836; 7ref
- CABRERA, A. 1968. Colección científica. Tomo IV. Flora de la Provincia de Bs. As. Parte 6 compuestas, INTA. 755 pág.
- EMMAN,E. 1990. Molluskicidal properties of the plant *Cestrum parqui*. Egypt. J. *Bilharziasis*. 12: 185-195.
- FELDMAN, H . 1988. Family of lines: random effects in linear regression analysis. Amer. Physiol. Soc. 140 pág.
- LAGUNES-TEJEDA, A. y M.VAZQUEZ-NAVARRO. 1994. El bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo, México. 159 p.
- LAZO,W y H. BRAVO. 1993. Antimicrobial action of some plants of medical use in Chile. *Bol. Micol.* 8: 43-44.
- MAREGGIANI,G, A. PELICANO, A. FRASCHINA, G. BILOTTI, N. GOROSITO y G. ZIPETO. 1996. Actividad *in vitro* de productos naturales de origen vegetal sobre larvas de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Fac. Agron.* 16(3):141-145.
- MERCK RESEARCH LABORATORIES. 1996. The Merck Index- Enciclopedia of chemicals, drugs and biological. 20ªed . Merck & Co. 1030 pág.
- PASCUAL –VILLALOBOS, M.J. 1998. Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae). *Bol.San.Veg.Plagas* 24:143-154.
- RAGONESE, A y V. MILANO. 1984. Vegetales y sustancias tóxicas de la flora argentina. Enc.Argent.Agric.y Jard.Tomo II. Ed Acme.417pág.
- RIAZ ,M. 1993. Chemistry of the medical plants of the genus *Cestrum* (family Solanaceae). *Hamdard-Medicus* 36(3):128-134
- RODRIGUEZ HERNANDEZ, C y A. LAGUNES TEJEDA. 1987. Toxic activity of *Cestrum spp* to larvae of the domestic mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Agrociencia* 67: 147-159
- RODRIGUEZ HERNANDEZ, C y A. LAGUNES TEJEDA. 1989. *Cestrum anagyris* como alternativa de combate de mosquitos. 1er. Enc.Estat.Entom.Méd.Vet. y 2das.Jorn.Méd.Salud. Cuernavaca. México. pág. 143-157
- ROSENTHAL, G.A and M.R. BERENBAUM. 1991. Herbivores. Their interactions with secondary plants metabolites. Acad.Press.Inc. 468 pag.
- SCRAMIN, S. 1987. Avaliação biológica de extractos de 14 especies vegetais sobre *Meloidogyne incognita* raça 1. *Nemat.Brasileira*. XI: 90-101