

Acción insecticida de extractos de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) en el gorgojo del arroz, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera, Curculionidae)

Silvia M. Rodríguez^{1*}, Marcela I. Moreira¹, Rosana A. Giménez¹, Serafina Russo¹, Adolfo M. Márquez², Rafael A. Ricco², Alberto A. Gurni² y Marcelo L. Wagner²

¹ Cátedra de Zoología Agrícola. Departamento de Sanidad Vegetal. Facultad de Agronomía, UBA. Av. San Martín 4453 (1417) Buenos Aires. República Argentina.

² Cátedra de Farmacobotánica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. Junín 956, 4º piso (1113) Buenos Aires. República Argentina.

* Autor a quien dirigir correspondencia: silro@agro.uba.ar

Resumen

El objetivo de esta experiencia fue estudiar el efecto insecticida de los extractos de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. –Simaroubaceae– (“palo amargo”) sobre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). Se utilizaron como solventes de extracción acetona y acetato de etilo. Se realizaron siete tratamientos con cinco repeticiones para cada extracto. Se diseñó una metodología aleatoria: T₁: control (agua), T₂: 0,15 g/ml; T₃: 0,20 g/ml; T₄: 0,25 g/ml; T₅: 0,30 g/ml; T₆: 0,35 g/ml y T₇: 0,40 g/ml. Sobre el papel de filtro contenido en las cajas de Petri se aplicó 1 ml de las diferentes concentraciones donde se colocaron 10 insectos adultos de gorgojos. La mortalidad de *S. oryzae* se registró a los 30 min, 6 h, 12 h y 18 h. Los resultados se contrastaron mediante ANOVA y Tukey (p<0,05). Con el T₃, para el extracto de acetato de etilo, se produjo un efecto de volteo sobre *S. oryzae* a las 6 h, pero se recuperó posteriormente. Los tratamientos T₅, T₆ y T₇ mostraron una efectividad del 100% a las 6 h. Para el extracto de acetona todas las concentraciones fluctuaron entre 80 y 100% de efectividad a las 6 h, y del 100%, a las 18 h.

Insecticide effect of *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae) extracts over rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera, Curculionidae)

Summary

The aim of this paper was to study the insecticide effect of the extracts of *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. –Simaroubaceae– on *Sitophilus oryzae* L. Two solvents were used to obtain the extracts: acetone and ethyl acetate. Seven treatments with five replications per extract and per control were included. A completely randomized design was used: T₁: control; T₂: 0.15 g/ml; T₃: 0.20 g/ml; T₄: 0.25 g/ml; T₅: 0.30 g/ml; T₆: 0.35 g/ml; T₇: 0.40 g/ml. Only 1 ml of the different concentrations was applied to filter paper disks in glass Petri dishes. Ten adult beetles were placed on those papers. The mortality was examined at 0.5 h, 6 h, 12 h, 18 h, 24 h, 48 h and 72 h. Both an ANOVA and a Tukey Test (5%) were performed. In T₃, with the fraction of ethyl acetate, an overturn effect was produced on *S. oryzae* at 6 hours, but it recovered some time later. The T₅, T₆ and T₇ showed a 100% efficiency at 6 hours. Regarding the acetone extract, all the concentrations ranged between 80 and 100% of efficiency at 6 hours, reaching 100% after 18 hours.

Palabras clave: *Picrasma crenata* - *Sitophilus oryzae* - insecticida biológico.

Key words: *Picrasma crenata* - *Sitophilus oryzae* - biological insecticide.

Introducción

En la actualidad el control que se lleva a cabo sobre las plagas que infestan los granos almacenados, es a base de productos químicos sintéticos. El inconveniente que presentan estos productos está relacionado con los residuos tóxicos que generan. Por otro lado, los compuestos presentes en los insecticidas sintéticos generan resistencia y resurgencia de las plagas que combaten (Beckel y col., 2002; Bourguet y col., 2000). En consecuencia, en la búsqueda de lograr una agricultura económica y ecológicamente sustentable en los mediano y largo plazos, resulta imprescindible buscar nuevas pautas de manejo de plagas durante el almacenamiento de la producción agrícola (Silva y col., 2002).

La capacidad de los vegetales para sintetizar metabolitos secundarios con acción insecticida se presenta como una de las áreas acertadas para los estudios. Actualmente se sabe que las sustancias del metabolismo secundario tienen diversas funciones ecológicas y que confieren a las plantas una ventaja adaptativa, y son responsables de los mecanismos de defensa frente a la agresión de los herbívoros (Hedin, 1982; Turk y Tawaha, 2003). En los insectos estas sustancias pueden producir efectos repulsivos antialimentarios, ser tóxicos y provocar alteraciones de la fisiología y el comportamiento sexual (Panizzi y Parra, 1991).

La familia de las Simaroubaceae es conocida por presentar sustancias amargas en los diferentes órganos; fueron investigadas por sus características medicinales y por su acción insecticida (Mambrelli y col., 1994; Koike and Ohmoto, 1988; Rosella y col., 1991; Mancebo y col., 2000; Krebs y col., 2001).

Picrasma crenata (Vell.) Eng. (ex *Aeschrion crenata* Vell.) (“palo amargo”) (Figura 1) pertenece a esta familia; el hábitat en la Argentina es a la vera de los ríos y arroyos de los bosques en casi todo el territorio de la provincia de Misiones (Spegazzini, 1917; Vitagliano y Comin, 1971). El leño de *P. crenata* es usado en la Argentina para el control de la pediculosis y para problemas intestinales. En la actualidad se estudian sus propiedades antivirales e insecticidas (Márquez y col., 1999; Rodríguez y col., 2004).

El “gorgojo del arroz”, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), es una plaga de infestación primaria; se alimenta del grano entero de los cereales -con preferencia del arroz- y con-

Figura 1.- *Picrasma crenata* (Simaroubaceae)



Figura 2.- *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae)



A: gorgojo en frutos de trigo.

B: gorgojo adulto.

sume el 26% del grano y los productos cerealeros: pastas, harinas y bizcochos (Figura 2 A). La infestación generalmente comienza en el cultivo, y se extiende en los depósitos de almacenamiento (Singh y col., 1989).

S. oryzae mide alrededor de 3 mm y es de color castaño oscuro con cuatro manchas rojizas en los élitros (Figura 2 B). El ejemplar adulto y la larva se alimentan del contenido de los cereales. Cuando ataca la parte amilácea del grano, la semilla puede germinar, pero la plántula no tendrá reservas para desarrollarse normalmente. Se produce una reducción del poder germinativo y del peso específico del grano, y así se desvaloriza el valor comercial del producto (Alonso y col., 1993). Además, puede provocar cambios en las características químicas del grano, como los observados en maíz con el nitrógeno total y los carbohidratos (Matioli y col., 1979).

S. oryzae puede actuar también como vector de los hongos de la familia Asteraceae como *Aspergillus flavus* (hongos tóxicos), al transportarlo a *A. candidus*, *A. sojae*, *A. fumigatus*, *Penicillium rugulosum* y *Cladosporium cladosporioides* (Pande y Mehrotra, 1998). A su vez, este efecto facilita el ataque posterior de otros insectos de infestación secundaria, como la carcoma achatada (*Cryptolestes ferrugineus* (Stephens),

la carcoma grande (*Tenebroides mauritanicus* (Linnaeus), los tribolios (*Tribolium castaneum* (H.) y *T. confusum* du Val) y las polillas [*Ephestia kuehniella* Zell. y *E. Elutella* (Hubner)], entre otros (Jalil Maluf y Lamédica, 1996).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto insecticida de extractos de *P. crenata* sobre adultos de *S. oryzae*, en distintas concentraciones, utilizando como solventes de extracción acetato de etilo y acetona.

Materiales y métodos

Insecto

Esta experiencia se efectuó sobre ejemplares de *S. oryzae* L, cepa Cátedra de Zoología Agrícola de la FAUBA. La crianza se realizó en recipientes de vidrio sobre granos de trigo y en condiciones controladas de temperatura ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) y humedad (60 %).

Material vegetal

El leño de *Picrasma crenata* fue provisto por la empresa "Platario S. A.", proveniente de plantaciones comerciales en Apóstol (provincia de Misiones). El material fue determinado por Beatriz G. Varela, y una muestra se encuentra depositada en el Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (Colección BAF de drogas vegetales).

Obtención de los extractos

Se tomaron 100 g de "palo amargo" finamente molido y se realizaron maceraciones sucesivas con éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y acetona.

Con cada solvente se procedió de la siguiente manera: se dejó macerar con 200 ml de solvente durante 48 h, se realizaron dos extracciones sucesivas que fueron unidas posteriormente (volumen total 400 ml), ese volumen se llevó a sequedad con evaporador rotatorio. Como adsorbente se le agregó 2 g de manitol.

Las fracciones estudiadas en el trabajo correspondieron a las fracciones acetato de etilo y acetona.

Control de calidad

Con el fin de determinar la presencia de cuasinoídes en los extractos se realizaron cromatografías líquidas de alta resolución (HPLC). Se utilizó columna LiChroCart 250-4 RP-18 (5 μm); la fase móvil fue ácido ortofosfórico 0,02 molar-metanol-acetonitrilo

(50:35:15) y la detección se realizó a 257 nm en un espectrofotómetro UV/visible (Robins and Rhodes, 1984). El tiempo de retención de la cuasina fue de 15 min y de la neocuasina, 20 min.

Bioensayo

Método del film

Se utilizaron diferentes cajas de Petri para cada tratamiento. En cada caja se colocó un papel de filtro, donde se agregó 1 ml de cada solución en estudio; los testigos fueron humedecidos con agua destilada. Las soluciones correspondieron a cada una de las concentraciones de los distintos tratamientos: T₁ (testigo, agua destilada); T₂ (0,15 g/ml); T₃ (0,20 g/ml); T₄ (0,25 g/ml); T₅ (0,30 g/ml); T₆ (0,35 g/ml); T₇ (0,40 g/ml) de extractos de acetato de etilo o de acetona, disueltos en agua destilada. Luego se introdujeron 10 ejemplares de *S. oryzae* en estado adulto en cada caja, sin separación por sexos. El ensayo se efectuó en condiciones controladas de temperatura ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (60 % de HR) (Figura 3).

Se realizó el recuento de individuos muertos a los 30 min, 3 h, 6 h, 12 h, 18 h, 24 h, 48 h y 72 h posteriores al ensayo. Fueron considerados muertos los ejemplares que se mantenían inmóviles al

Figura 3.- Bioensayo. Método del film



estímulo del pincel. Con estos datos se obtuvo el porcentaje de eficacia respectivo aplicando la fórmula de Schneider-Orelli (1947):

$$\% \text{ de eficacia} = (b - k / 100 - k)$$

b = % de individuos muertos en caja tratada.

k = % de individuos muertos en caja testigo.

Análisis estadístico

El ensayo se realizó mediante un diseño completamente aleatorio (DCA). La unidad experimental fue la caja de Petri, y se realizaron 5 repeticiones para cada tratamiento. Se efectuó el análisis de variancia del porcentaje de eficacia de los tratamientos (ANOVA) y Test de Tukey.

Resultados

Ambas fracciones, acetato de etilo y acetona, presentaron mayor mortalidad a medida que transcurrió el tiempo desde la aplicación. El momento de estabilización varió según el tratamiento. Para el extracto de acetona fue a las 12 h y para el acetato de etilo, a partir de las 18 h. Para el tratamiento con acetona se alcanzaron valores muy altos de eficacia a partir de las 6 h, que llegó al 100% de mortalidad para todas las concentraciones a partir de las 12 h (Tablas 1 y 2; Figuras 4 y 5). En ambos casos, para todas las concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas a partir de las 6 h en relación con la primera observación realizada a los 30 minutos.

Tabla 1.- Efecto del extracto de acetato de etilo sobre *Sitophilus oryzae*

Hora	Tratamientos					
	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g	3,5 g	4,0 g
0,5	0	2a	4a	2a	28a	78a
6	52	96b	22ab	100b	100b	100b
12	60	92b	22ab	100b	100b	100b
18	60	62ab	64cb	100b	100b	100b
24	60	28a	92c	100b	100b	100b
48	60	30a	84c	100b	100b	100b
72	58	28a	90c	100b	100b	100b
F	2,34 n.s.	6,86	10,18	24,01	61,71	12,86

Eficacia de los distintos tratamientos con el extracto de acetato de etilo en los diferentes momentos de la observación. ANOVA F (6:28; p<0,05) y Test de Tukey. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, n.s.: diferencias no significativas.

Discusión y conclusión

El control de insectos plaga en granos almacenados por medio de aceites vegetales se presenta como una alternativa segura de control a un bajo costo (Salas, 1984). Los aceites extraídos de nuez, girasol, sésamo y mostaza, solos, o en combinación con 1,8 cineol, eugenol, o alcanfor, registraron efectividad cuando fueron probados sobre *S. granarius* y *S. zeamais* (Obeng-Ofori y Reichmuth, 1999).

Se comprobó que los extractos obtenidos de la maceración del “palo amargo” con acetato de etilo y con acetona permiten el control de adultos de *S. oryzae*, en particular, el extracto de acetona por su alta eficacia a bajas dosis y en breve tiempo.

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos inferir que *P. crenata* puede producir una acción insecticida similar a *Quasia amara* L. (originaria del neotrópico), cuya madera contiene quasinósidos. En los últimos años hay un renovado interés en la promoción de *Q. amara* como una fuente útil para las comunidades indígenas mesoamericanas; los estudios fueron conducidos hacia sus aspectos ecológicos y siviculturales de la especie, como también a la comercialización de sus productos.

Los insecticidas vegetales presentan la ventaja de ser compatibles con otras opciones de bajo riesgo, aceptables en el control de insectos, como feromonas, aceites, jabones, hongos entomopatógenos, predadores y parasitoides, lo que aumenta sus posibilidades de integración a un programa de “manejo integrado de plagas”.

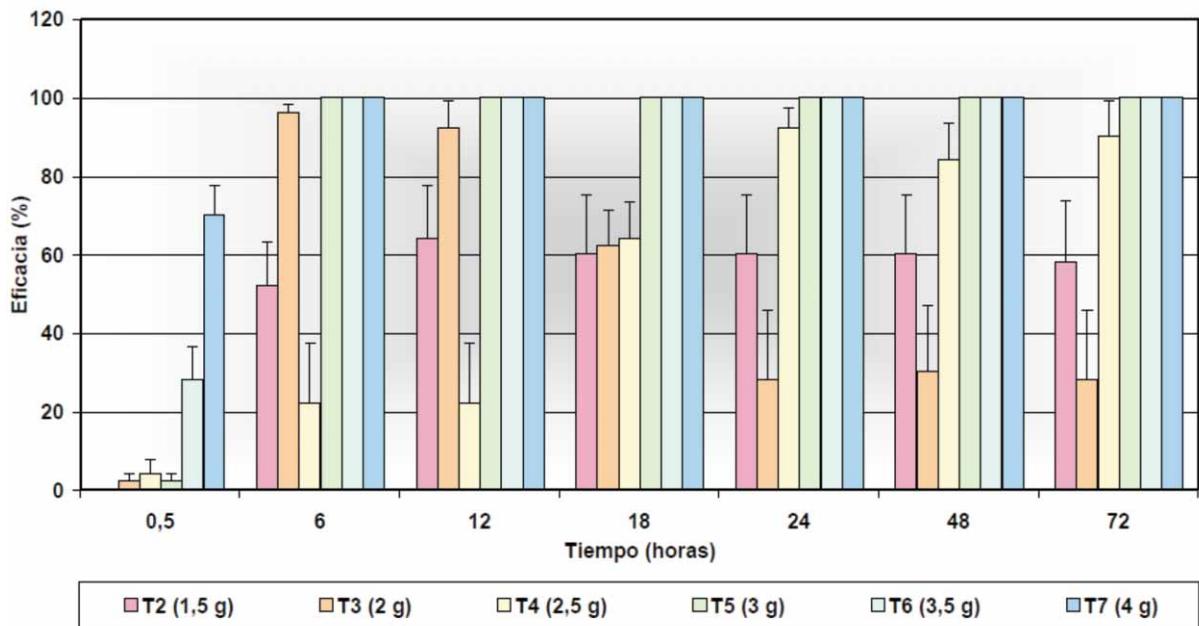
Tabla 2.- Efecto del extracto de acetona sobre *Sitophilus oryzae*

Hora	Tratamientos					
	1,5 g	2,0 g	2,5 g	3,0 g	3,5 g	4,0 g
0,5	52a	58	68a	32a	72a	86a
6	98b	80	94b	94b	100b	100b
12	100b	100	100b	100b	100b	100b
18	100b	100	100b	100b	100b	100b
F	23,22	1,94 n.s.	4,17	90,48	14,52	7,54

Eficacia de los distintos tratamientos con el extracto de acetona en los diferentes momentos de la observación. ANOVA F (6:28; p<0,05) y Test de Tukey.

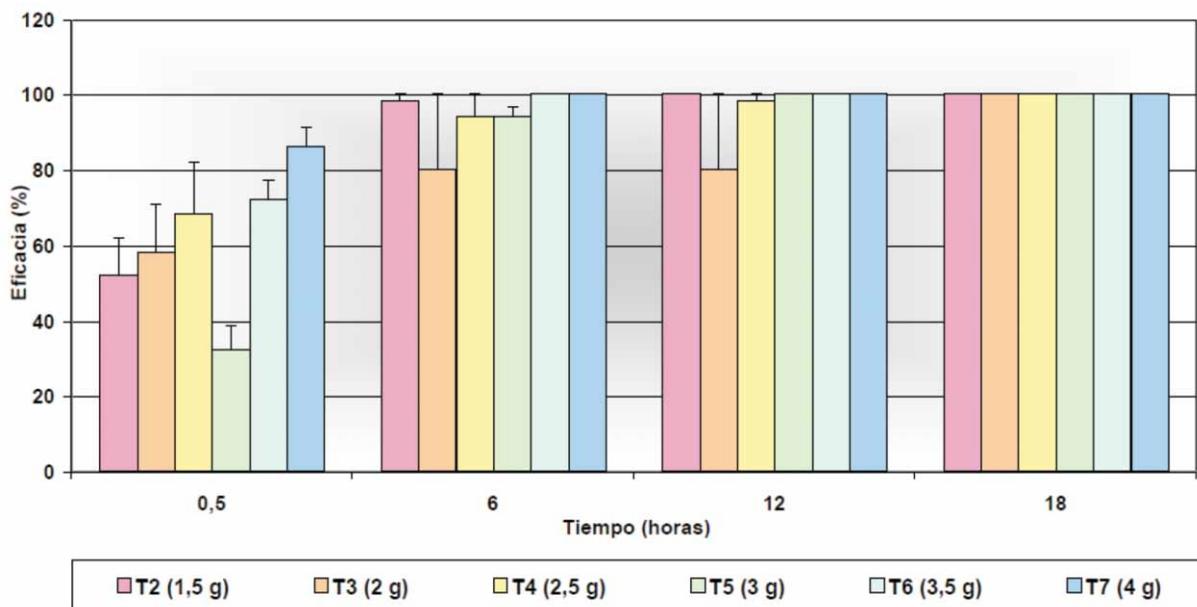
Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas, n.s.: diferencias no significativas.

Figura 4.- Efecto del extracto de acetato de etilo sobre *Sitophilus oryzae*



Eficacia del extracto de acetato de etilo sobre *S. oryzae* para los distintos tratamientos en el transcurso del tiempo desde la aplicación.

Figura 5.- Efecto del extracto de acetona sobre *Sitophilus oryzae*



Eficacia del extracto de acetona sobre *S. oryzae* para los distintos tratamientos en el transcurso del tiempo desde la aplicación.

Este trabajo aporta nuevos elementos sobre las propiedades insecticidas de *P. crenata* factibles de ser aplicados en ese tipo de programa. Incluso podría considerarse su aplicación con insecticidas convencionales de baja toxicidad, que permitiría el uso de dosis menores de esos productos, nocivos para la salud y el medio ambiente.

Referencias bibliográficas

- Alonso, A.; Calderini, D.F.; Cantamutto, M.A y col. (1993). *El almacenamiento de granos y semillas alimenticios*. Hemisferio Sur S.A. Buenos Aires: 154.
- Beckel, H.; Lorini, I. y Lazzari, S.M. (2002). "Detecção da resistencia de *Oryzaephilus surinamensis* (L.), (Coleoptera:Silvanidae), praga de grãos de cevada armazenada, a inseticidas químicos." *Anais da XXII Reunião Anual de Pesquisa de Cevada*. Embrapa Trigo, Passo Fundo, Brasil: 620-630.
- Bourguet, D.; Genissel, A. and Raymond, M. (2000). "Insecticide resistance and dominance levels". *Journal of Economic Entomology* 93(6): 1588-1595.
- Chaudhry, M.Q. (1997) "A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects". *Pesticide-Science* 49(3): 213-228.
- Hedin, P.A. (1982). "New concept and Trends in Pesticide Chemistry". *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 30(2): 201-215.
- Ishii, K.; Koike, K. and Ohmoto, T. (1991). "Javanicinosides D-H, Quassinoid glucosides from *Picrasma javanica*". *Phytochemistry* 30(12): 4099-4103.
- Jalil Maluf, E. y Lamédica, C.D. (1996). "Manejo y control de plagas en granos almacenados". *Cuaderno de Actualización Técnica* N° 56 de AACREA: 144.
- Krebs, H.C.; Schilling, P.J.; Wartchow, R. and Bolte, M. (2001). "Quassinoids and Other Constituents from *Picrasma crenata*". *Z. Naturforsch.* 56b: 315-318.
- Koike, K. and Ohmoto, T. (1988). "Picrasidine-U, Dimeric alkaloid from *Picrasma Quassioides*". *Phytochemistry* 27(9): 3029-3030.
- Mambelli P., Marchini B., Bazzocchi C., Pari P. and Tellarini S. (1994). "El Valutazioni preliminari sull'ottimizzazione delle modalità d'uso del legno quassio [*Quassia amara* L., *Picrasma exelsa* (Swz.) Lindl]. Quale insecticida biológico". El Atti Convegno Internazionale: *Coltivazione el e miglioramento di piante officinale*, Trento, Italia, 2-3 giugno.
- Mancebo, F.; Hilje, L.; Mora, G. y Salazar, R. (2000). Antifeedant activity of *Quassia amara* (Simaroubaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop Protection* 19: 301-305.
- Márquez, A.; Borri, K.; Dobrecky, J., Gurni, A. A. and Wagner, M. L. (1999). "New aspects in quality control of 'Palo Amargo' (*Aeschrium crenata* Vel.-Simaroubaceae)". *Acta Horticulturae* 503: 111-115.
- Matioli, J.C.; Almeida, A.A.; De Almeida, A. y Antunes de Almeida, A. (1979). "Alterações nas características químicas dos grãos de milho causadas pela infestação de *Sitophilus oryzae* (L. 1763). III. Nitrogenio total e carboidratos" *Revista Brasileira de Armazenamento* 4(1): 57-68.
- Muggleton, J. (1997). "Insecticide resistance in stored product beetles and its consequences for their control". *British Crop Protection Council*, UK. 37: 177-186.
- Obeng-Ofori D. y Reichmuth C. (1999). "Plants oils as potentiation agents of monoterpenes for protection of stored product beetle pests". *International Journal of Pest Management* 45(2):155-159.
- Pande, N. y Mehrotra, B.S. (1988). "Rice weevil (*Sitophilus oryzae* Linn.): vector for toxigenic fungi". *National Academy Science Letters*, India 11(1): 3-4.
- Panizzi, A.R. y Parra J.R.P. (1991) *Ecología nutricional de insectos y sus implicaciones en el manejo de plagas*. Editorial Manole Ltda: 316 pág.
- Pascual Villalobos, M.J. (1996). "Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigación". *Colección Monografías*. Instituto Nacional de Investigaciones y Tecnología Agraria y Alimentaria. N° 92. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid: 33.
- Rassmann, W. (1988). "Insektizidresistenz bei Vorratsschadlingen Gesunde-Pflanzen" 40(1): 39-42.
- Robins, R.J. and Rhodes, M.J.C (1984). "High performance liquid chromatographic methods for the

- analisis and purification of quassinoids from *Quassia amara* L.”. *Journal of Chromatography* 283: 436-440.
- Rodríguez, S.; Giménez, R.; Lista, J.; Michetti, M. y Wagner, M.L. (2004). “Respuesta de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) a la aplicación de soluciones acuosas de *Picrasma crenata* (Vell.) Engl. (Simaroubaceae)”. *IDESIA* 22(2): 43-48.
- Rosella, M.; Mandrile, E y Bongiorno de Pfirter, G. (1991). “Nueva farmacognosia de las cuasias”. *Rev. Farm.* 133(1): 19-28.
- Salas, G. P. (1984). “Protección de semillas de maíz (*Zea mays*) contra el ataque de *Sitophilus oryzae* a través del uso de aceites vegetales”. *Agronomía Tropical*. 35(4-6): 13-18.
- Schneider-Orelli, O. (1947). *Entomologisches praktikum*. Sauerländer, Arau, Germany: 237.
- Silva, G.; Lagunes, A.; Rodríguez, J.C. y Rodríguez, D. (2002) “Insecticidas vegetales: una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas”. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 66: 4-12.
- Singh, D.; Siddiqui, M.S. y Sharma S. (1989). “Reproduction retardant and fumigant properties in essential oils against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat”. *Journal of Economic Entomology* 82(3): 727-733.
- Spegazzini, C. (1917) “Ramillete de plantas argentinas nuevas e interesantes”. *Physis* 43(3): 173-174.
- Szafranski, F.; Bloszyk, E. and Drozd, B. (1993). “Deterrent activity of African plant extracts against selected stored product insect pest”. *Acta Horticulturae* 331: 319-322.
- Turk, M.A. y Tawaha, A.M. (2003). “Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.)”. *Crop Protection* 22: 673-677.
- Vitagliano, J.C. and Comin, J. (1971). “Quassinoids from *Aeschrion crenata*”. *Phytochemistry* 11: 807-810.
- Zuloaga, F. O. y Morrone, O. (1999). “Catálogo de las plantas vasculares de la República Argentina.”. *Missouri Botanical Garden Press*: 1058.