

EVALUACION DE LA ACCION INSECTICIDA DE LA RAPANONA SOBRE *Tribolium castaneum* (HERBST)

**GERMAN CHAVEZ, FERNANDO NUÑEZ
& JAIRO CALLE**

Departamento de Biología y Departamento
de Química Farmacéutica, Universidad Nacional
de Colombia. Apartado Aéreo 14490, Bogotá, D.C., Colombia

RESUMEN

Se realizaron experimentos para detectar y cuantificar efectos insecticidas de la rapanona sobre el escarabajo de la harina, *Tribolium castaneum*. Las pruebas fueron de dos clases: por ingestión y por contacto. Se comprobó que la rapanona tiene propiedades insecticidas sobre *T. castaneum*. Las toxicidades agudas, medidas en términos de DL50 fueron relativamente altas comparadas con insecticidas sintéticos comerciales. También se encontró una proporcionalidad inversa entre dosis de rapanona y productividad promedio; una dosis de 7000 mg de rapanona por kilo de alimento, es suficiente para exterminar casi del todo una población de *T. castaneum* en una sola generación.

SUMMARY

Experiments were carried out to detect and estimate the insect-killing effect of rapanone on the flour beetle *T. castaneum*. Two kinds of essays were made: by ingestion and by contact. It was proved that rapanone has insecticide activity on *T. castaneum*. Relatively high LD50 were determined, in comparison with those of conventional commercial insecticides. An inverse proportionality, between doses of rapanone and the mean productivity, was also

found; a dose of 7000 mg rapanone per kg standard culture medium is enough to exterminate, almost completely, a population of *T. castaneum* in one generation.

Palabras claves: Quinona. Rapanona. Insecticida. *Tribolium*.

Introducción

En la tradición popular colombiana se han señalado multitud de plantas como poseedoras de presuntas propiedades insecticidas o de repelencia a insectos (Pérez Arbelaez, 1956).

Se sabe que esas propiedades radican en diversos tipos de metabolitos, entre otros, las quinonas. Desde mucho tiempo atrás se han estudiado las propiedades químicas y biológicas, así como las estructuras moleculares de estos compuestos (Thompon, R.H., 1957). La rapanona es una quinona obtenida de *Myrsine quianensis* (Aubl.) Kuntze, un árbol de la familia Myrsinaceae, que crece silvestre en algunas regiones de Colombia. Por tener una estructura química muy semejante a la embelina, —cuyos efectos insecticidas sobre *T. castaneum* han sido comprobados (Chander, 1987 y 1989)— se presume que también debe mostrar los mismos o parecidos efectos. Por otra parte, a partir de especies vegetales pertenecientes a géneros muy afines a *Myrsine*, tales como: *Embelia*, *Ardisia* y *Maesa*, se han extraído compuestos cuyas actividades biocidas han sido rigurosamente confirmadas (Reguero, T., J. Calle y T. Mata, 1989).

Curiosamente los insectos tenebriónidos adultos del género *Tribolium* secretan quinonas. Esta secreción se debe a la actividad de sus glándulas odoríferas: un par torácicas y un par abdominales (Sokoloff, 1972). Consisten casi exclusivamente, en una mezcla de metil y etilquinonas (Markarian et al., 1978). La función que puedan desempeñar tales quinonas en la biología de estos insectos no está bien comprendida, pero son altamente tóxicas para los propios individuos que las producen: alargan el período larval, reducen el peso de larvas y pupas, reducen fecundidad y fertilidad e inducen malformaciones teratológicas (Mondal, 1992). En este estudio se presentan resultados cuantitativos de la acción insecticida de la rapanona sobre las distintas fases del ciclo vital de *T. castaneum*. También se cuantifican sus efectos sobre la productividad de la misma especie.

Materiales y métodos

Rapanona

Su nombre químico es: 2,5, dihidroxi-3 propadecil 2-5 ciclo- hexadieno 1-4 dieno (IUPAC).

Fue obtenida de la corteza de *Myrsine guianensis* (Aubl.) Kuntze. Este material fue colectado en la vereda de Bochica Alta, municipio de Fusagasugá, departamento de cundinamarca (Colombia).

El proceso de obtención es el siguiente:

- Se pulveriza la corteza seca de la planta.
- Se mezcla con éter de petróleo calentado a reflujo durante una hora.
- Se filtra en caliente.
- El filtrado se enfría y se filtra de nuevo.
- El residuo seco en forma de pequeños cristales, obtenido del segundo filtrado, consiste en rapanona mayoritariamente.

Animales de experimentación

Los especímenes de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) empleados en este estudio provienen de líneas silvestres sintéticas del capario del departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C.

Todos los ensayos se hicieron a 32°C y 75% de humedad relativa (H.R.).

Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente al azar, con 5 repeticiones por tratamiento (dosis). Se ensayaron 8 tratamientos para las pruebas de ingestión y 10 tratamientos para las pruebas de contacto. En cada unidad experimental se colocaron 40 individuos.

La variante analizada, porcentaje de mortalidad, se expresó como valor promedio del número de individuos muertos respecto al total de individuos incluidos en cada tratamiento.

Pruebas de ingestión

Estas pruebas se realizaron en larvas y adultos.

La rapanona pura se mezcló con medio de cultivo standard (harina de trigo: levadura de cerveza. 19:1 p/p.), obteniéndose así diferentes concentraciones de rapanona, expresadas en mg de ésta por kg de medio de cultivo: t1 = 0, t2 = 1000, t3 = 2000... t8 = 7000.

Para cada unidad experimental se usaron frascos de vidrio de 100 ml de capacidad. En cada frasco se depositaron 20 g de medio de cultivo bien mezclado con rapanona. Se hicieron lecturas de mortalidad a las 12 horas, 24 horas, 3 días, 7 días, 14 días y 21 días, para el caso de adultos (Chander, 1987 y 1989; Mondal, 1989). Y a los 4, 8 y 12 días para el caso de larvas.

El mismo conjunto experimental usado para pruebas de ingestión en adultos, se empleó para la prueba de productividad. Esta se entiende aquí según la ha definido Sokoloff (1966) y la han aplicado Vásquez & Rodríguez (1982):

$$P = \frac{\text{No. de adultos}}{\text{No. de larvas} + \text{No. de pupas} + \text{No. de adultos}}$$

Los conteos para productividad se hicieron a los 21 días.

Pruebas de contacto

Estas pruebas se llevaron a cabo con cada una de las diferentes fases del ciclo biológico: huevos, larvas, pupas y adultos.

Los ensayos con huevos y pupas se hicieron siguiendo el modelo de las pruebas de ingestión: colocando los animales en el interior de frascos con medio de cultivo más rapanona, para evitar así la muerte por desecación. Los ensayos con larvas y adultos se hicieron colocando los individuos en el fondo de cajas de petri de 9 cm de diámetro sobre papeles de filtro impregnados con soluciones cloro-fórmicas de rapanona. Estas soluciones se prepararon disolviendo 1000, 2000, 3000... 9000 mg de rapanona en 20 ml de cloroformo. Al testigo se le aplicaron 20 ml de cloroformo solo. Los mismos 20 ml de cada una de las soluciones obtenidas se gotearon en cada caja de Petri, constituyendo cada bloque de 5 repeticiones un tratamiento distinto. Se dejó evaporar el solvente durante 24 horas. Durante el tiempo del ensayo los insectos se mantienen

privados de alimento. Las lecturas de mortalidad se hicieron a las 12, 24, 48 y 72 horas.

Las dosis letales, mínima, media y máxima se calcularon según el método de Red & Muech, descrito en Ospina de Nigrinis (1980). También se calcularon esos valores según el método gráfico descrito en Herrera & Kelan (1970). Los cálculos de mortalidad se corrigieron mediante aplicación de la fórmula de Abbot (Andrewartha, 1970).

Resultados y discusión

Pruebas de ingestión

En el caso de adultos, los resultados muestran que el efecto tóxico de la rapanona no es inmediato, si no que requiere permanecer un cierto tiempo actuando sobre el organismo. En el presente ensayo ese período fue de 14 a 21 días (Fig. 1) que es cuando se manifiesta una toxicidad aguda expresable en términos de dosis letal mínima. Estas observaciones son coincidentes con las de autores anteriores sobre la acción de la embelina, aplicada a algunas plagas de granos almacenados (Chander, 1987).

En el caso de larvas, a los cuatro días se presenta una mortalidad considerable, insuficiente, sin embargo, para poder confirmar una toxi-

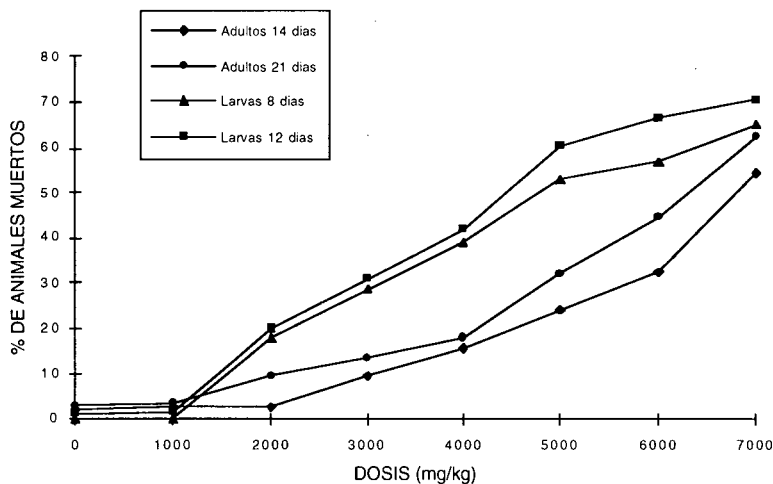


FIGURA No. 1. Pruebas de ingestión.

TABLA No. 1. Toxicidad aguda de rapanona sobre *T. Castaneum* expresada en términos de dosis letales mínimas (DL min.), dosis letales medias (DL 50) y dosis letales máximas (DL max.) Los dos valores que aparecen para DL 50 corresponden al obtenido por el método gráfico y al obtenido por el método matemático, respectivamente.

PRUEBAS DE INGESTION					PRUEBAS DE CONTACTO			
	ADULTOS		LARVAS		ADULTOS	LARVAS	HUEVOS	PUPAS
DOSIS	14 DIAS	21 DIAS	8 DIAS	12 DIAS	72 HRS	72 HRS	5 DIAS	5 DIAS
DL min.	6.000	6.000	4.000	4.000	7.000	5.000	4.000	3.000
DL 50	6.350 - 6.650	6.100 - 6.340	4.350 - 4.760	4.100 - 4.435	7.800 - 8.280	5.930 - 6.800	4.930 - 5.060	3.200 - 3.300
DL max.	7.000	7.000	5.000	5.000	9.000	7.000	5.000	4.000

cidad aguda expresable en términos de DL50 (Fig. 1). A los 8 y 12 días se registra ya una toxicidad aguda, con un valor de DL50 entre 4350 y 4760 mg/kg (8 días). Y de 4100- 4435 mg/kg a los 12 días (Fig. 1 y Tabla 1). Esto indica una mayor sensibilidad de las larvas a la ingestión de rapanona comparada con la de los adultos. Además, —a pesar de que no se pudo comprobar en este estudio— es muy probable que las larvas ingieran, proporcionalmente, más alimento que los adultos. Resultados semejantes se han obtenido con larvas de otro coleóptero: *Leptinotarsa decemlineata*, las cuales fueron tratadas con 5 metoxi-6-(1-4 metoxifenil) etil 1-1-3-benzodioxol (Mellaert, 1983).

Pruebas de contacto

En adultos como en larvas, la toxicidad aguda sólo se hace manifiesta a las 72 horas. El valor de la DL50 calculada es de 7800 a 8280 mg (Tabla 1 Fig. 2), la cual es muy alta si se compara con las que se obtuvieron en las pruebas de ingestión. Sin embargo, el tiempo transcurrido en estos ensayos por contacto es mucho más breve que el de las pruebas de ingestión: 3 días contra 14 días. Si tenemos en cuenta que en los ensayos de ingestión, los insectos no solamente ingieren la rapanona, si no que están en contacto permanente con ella, parece razonable pensar que el menor tiempo transcurrido para la aparición de toxicidad aguda en las pruebas de contacto, podría estar directamente relacionado con la mayor cantidad total de rapanona presente en los frascos y cajas de petri en que se realizaron las pruebas de contacto, ya que debido al método de obtención de las distintas concen-

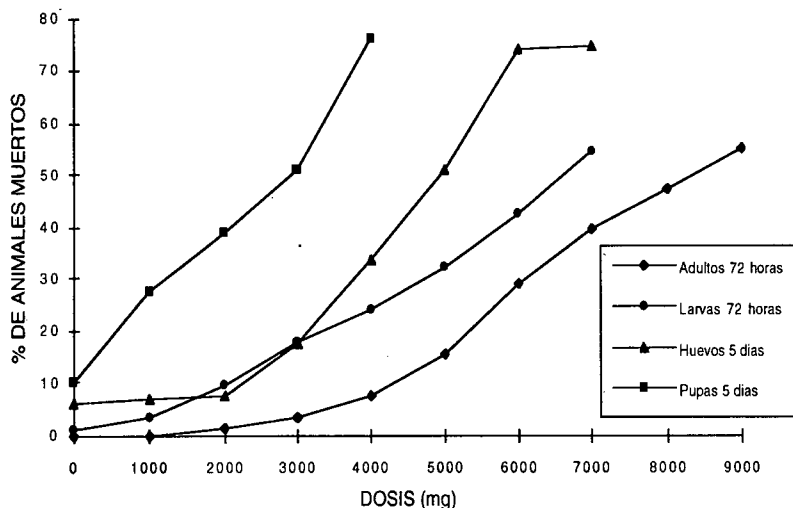


FIGURA No. 2. Pruebas de contacto.

traciones de rapanona, ésta se encuentra en una cantidad 44 veces mayor en cada uno de estos recipientes que en los correspondientes para pruebas de ingestión. El ayuno forzado a que fueron sometidas las larvas y adultos a lo largo de 72 horas durante las pruebas de contacto, no parece tener incidencia en los resultados, puesto que hay consenso entre los autores consultados, en el sentido de que sólo a partir de las 72 horas se empiezan a registrar muertes por inanición.

El menor valor de la DL50 encontrado en las pruebas de ingestión, pudiera tal vez interpretarse como resultado del doble efecto simultáneo producido por la ingestión y el contacto forzado.

La DL50 calculada para larvas a las 72 horas fue de 5930-6800 mg (Tabla 1 y Fig. 2), más baja que la calculada para adultos. Este resultado podría atribuirse a que el cuerpo de las larvas está casi desnudo, sin el grueso revestimiento de quitina que protege el cuerpo de los adultos. Resultados comparables fueron obtenidos por Don-Pedro (1989) mediante aplicación tópica de aceites de palma a *Dermestes maculatus* L. Aquí de nuevo encontramos un lapso menor necesario para la manifestación de toxicidad, si comparamos con adultos, y de nuevo esto bien pudiera relacionarse con la mayor cantidad total de rapanona presente por frasco.

Tanto en huevos como en pupas, la toxicidad aguda sólo se hace evidente a los 5 días de exposición, tiempo más largo que el transcurrido

para larvas y adultos. Es notorio pero enigmático el hecho de que las pupas registren la menor de todas las DL50 determinadas a lo largo de este trabajo. Este hecho es inesperado si tenemos en cuenta que —al menos en teoría— en la fase de pupa, el metabolismo se halla en su punto más bajo; se cree, además, que el intercambio con el medio exterior es casi nulo. Por otra parte, no hemos encontrado referencias esclarecedoras sobre aplicación de insecticidas a pupas.

En el caso de huevos, las DL50 calculadas son también bajas, pero mayores que para pupas. Se sabe que la fase de huevo es muy sensible

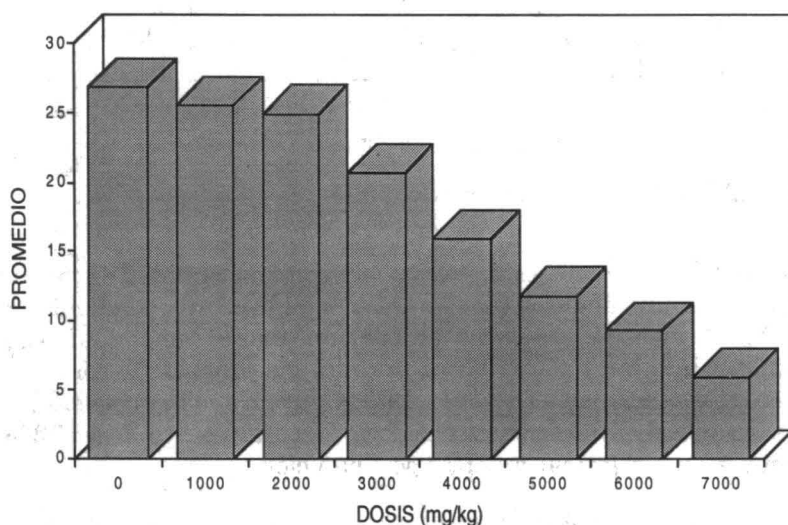


FIGURA No. 3. Distribución de productividad.

al contacto con sustancias tóxicas, ya que éstas pueden penetrar a través de los poros de la cubierta. Esto ha sido comprobado con otras especies de insectos, entre otros, por Kramer & MacGregor (1978) y Don-Pedro (1989).

Productividad

Se observa una proporcionalidad inversa entre dosis de rapanona y promedio de productividad (Fig. 3). El decremento es moderado entre la dosis 0 (testigo) y la dosis 3 (2000 mg/kg); pero el decremento se acelera a partir de la dosis 5 (4000 mg/kg). Es muy probable que los efectos de la rapanona sobre productividad se deban a múltiples causas, entre

ellas: incremento en la mortalidad de adultos, incremento en la mortalidad de fases inmaduras, alargamiento de algunas fases del ciclo, especialmente larvas y pupas, y en general, efectos tóxicos acumulativos sobre las funciones metabólicas.

Conclusiones

- A través de los experimentos reseñados aquí se demuestra sin lugar a dudas que la rapanona es una sustancia que ejerce alta toxicidad sobre *T. castaneum*. Puede afirmarse que actúa como insecticida.
- En general, en las diferentes pruebas realizadas, fueron necesarias dosis relativamente altas para alcanzar toxicidad aguda mediante la aplicación de rapanona.
- En pruebas de contacto, los valores de DL50 fueron más altos que los calculados en las pruebas de ingestión.
- El tiempo de aplicación necesario para el registro de alta toxicidad fue menor en las pruebas de contacto que en las pruebas de ingestión.
- Se observa una proporcionalidad inversa entre concentración de rapanona y productividad promedio. A dosis altas de 7000 mg/kg se podría exterminar casi totalmente una población de *T. castaneum* en el transcurso de una sola generación.

BIBLIOGRAFIA

- ANDREWARTHA, H.G. 1970. Introducción al estudio de poblaciones animales. Edit. Alhambra. 351 p. Madrid (Esp.).
- CHANDER, H. 1987. Laboratory Evaluation of Natural Embelin as a Grain Protectant against some insect pests of wheat in storage. *J. Stor. Prod. Res.* 23 (1): 41-46 pp.
- CHANDER, H. 1989. Comparative evaluation of fungicidal quinones and natural embelin against some insect pests of storage. *J. Stor. Prod. Res.* 25 (2): 87-91 pp.
- DON-PEDRO, K. 1989. Insecticidal activity of some vegetable oils against *Dermestes maculatus* Degeer (Coleoptera: Dermestidae) on dried fish. *J. Stor. Prod. Res.* 25 (2): 81-86 pp.
- HERRERA, A. & KELAN, G. 1970. Análisis fitoquímico y farmacológico del *Solanum marginatum*. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas*. 1(3): 41-63 pp.
- KRAMER, K. & MCGREGOR, H. 1978. Activity of Pyridyl and phenyl ether analogues of juvenile hormone against coleoptera and lepidoptera in stored grain. *J. Econ. Entom.* 71 (1): 132-134 pp.
- MARKARIAN, H., FLORENTINE, G. & PRATT, J. 1978. Quinone production of some species of *Tribolium*. *J. Insect Physiol.* 24: 785-790 pp.
- MELLAERT, H. 1983. Insecticidal activity of 5-methoxy-6-(1-methoxyphenyl ethyl) 1,3-benzodioxole against the colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entom.* 76 (2): 990-992 pp.
- MONDAL, K. 1989. Effect of synthetic methylquinone on adult mortality in *Tribolium confusum* Duv. *Tribolium Information Bulletin*. 29: 81-84 pp.
- MONDAL, K. 1992. Quinone secretions of flour beetles, *Tribolium*: Problems and prospects. *Tribolium Information Bulletin* 32: 79-89 pp.
- OSPINA DE NIGRINIS, L.S. 1980. Contribución al estudio fitoquímico de la planta *Spilanthes americana*. Tesis de post-grado (Farmacología). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C.
- PEREZ-ARBELAEZ, E. 1956. Plantas útiles de Colombia. Suces. of Rivadeneyra, 3a. ed. 831 p. Madrid (España).
- REGUERO, T. CALLE, J. & MATA, R. 1989. Estudio fitoquímico y actividad biológica de la corteza de *Rapanaea quianensis*. *Revista Colombiana de Ciencias Farmacéuticas* 17 (3): 57-61 pp.
- SOKOLOFF, A. 1966 Comparative studies with *Tribolium* (Coleoptera: Tenebrionidae). II: Productivity of *T. castaneum* and *T. confusum* on natural, semi-synthetic and synthetic diets. *J. Stor. Prod. Res.* 1 (2): 313-324 PP.
- SOKOLOFF, A. 1972. The Biology of *Tribolium*. Oxford Univ. Press. vol. 1. 300 p. New York.
- THOMPSON, R.H. 1957. Naturally occurring quinones. Butterworths Scientific. London.
- VASQUEZ, W. & RODRIGUEZ, M. 1982. Efecto de los factores ambientales, temperatura y dieta en la productividad y tasa de desarrollo de *Tribolium castaneum* (Herbst.). Boletín Departamento de Biología. Universidad Nacional de Colombia. 1 (4): 17-27 pp.