

ACTIVIDAD INSECTICIDA DEL EXTRACTO ETEREO Y FRACCIONES AISLADAS DE HOJAS DE *Ricinus comunis L.*, SOBRE *Sitophilus oryzae L.*

Jairo Calle Alvarez (1),
Roberto Pinzón (1),
Edgar Bautista (2),
Augusto Rivera (3),
Doyler Villegas Molina.

RESUMEN

Se evaluó la actividad insecticida de extractos, fracciones cromatográficas y mezclas de compuestos aislados de las hojas de *Ricinus comunis L.*, empleando los métodos de contacto forzado e ingestión frente a insectos adultos de *Sitophilus oryzae L.* El extracto que mostró mejor actividad insecticida fue el de éter de petróleo (p.eb. 40-60°C), a una concentración del 5% con una mortalidad del 89% a las 72 horas. El extracto etéreo se fraccionó utilizando métodos cromatográficos, las fracciones obtenidas fueron caracterizadas a través de la técnica de CG/EM.

La composición química de las fracciones indica la presencia de ésteres de ácidos grasos y alcoholes de elevado peso molecular (ceras líquidas) e hidrocarburos superiores.

1. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia. A.A. 14490. Bogotá, Colombia.
2. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Física.
3. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias, Departamento de Química.

SUMMARY

The insecticidal activity of some extracts, chromatographic fractions and mixture of compounds from leaves of *Ricinus comunis L.* was evaluated by direct forced contact and ingestion methods on adult insects of *Sitophilus oryzae L.* The petroleum ether extract (b.p. 40-60°C) showed the highest activity at 5% of concentration. This extract was separated by several chromatographic methods, and some mixtures of compounds were isolated and purified by CG/EM thecnics. These fractions consist of methyl and ethyl esters of branched saturated hidrocarbons and waxes composed by fatty acids and fatty alcohols.

INTRODUCCION

Hay gran preocupación a nivel mundial por el uso indiscriminado y masivo de pesticidas que inducen resistencia en los insectos, desequilibrio ecológico, contaminación ambiental y un aumento en los costos de manejo de los cultivos.

Si en las prácticas culturales se tiene en cuenta el uso de insecticidas de origen biológico, es probable que

se puedan controlar insectos plaga, evitando así los problemas mencionados. Los primeros bioinsecticidas utilizados fueron las piretrinas y los piretroides, cuyo empleo representa hoy en día el 30% del consumo mundial de insecticidas caseros (1). La investigación en este campo ha permitido identificar y aislar, a partir de ciertas plantas, metabolitos secundarios con actividad insecticida (2,3,4,5).

En una investigación anterior se estableció la actividad insecticida de las hojas de *Ricinus comunis L.* frente a *Sitophilus oryzae L.* (6); algunos otros investigadores han realizado estudios sobre esta especie (7,8,9).

PARTE EXPERIMENTAL

El material vegetal *Ricinus comunis L.* (hojas), se recolectó de plantas adultas en las afueras de la población de Fusagasugá. Un ejemplar reposa en el Herbario Nacional Colombiano con el número 328005.

Extracción del Material Vegetal

Las hojas se secaron en un horno con aire circulante a una temperatura de 50°C, durante 72 horas y se molieron. 1985 g de este material se sometieron a percolación con etanol de 96% hasta agotamiento. Los percolados se concentraron en rotavapor y este extracto se extrajo hasta agotamiento con éter de petróleo (p.eb. 40-60°C), el cual se destiló y se concentró.

Fraccionamiento del extracto en éter de petróleo

Se procedió a realizar un fraccionamiento del extracto en éter de petróleo por cromatografía en columna, usando gel de sílice 60 y eluyendo con éter de petróleo inicialmente y posteriormente con mezclas de éter de petróleo, diclorometano y metanol.

La separación se controló por cromatografía en capa delgada, desarrollando las cromatoplasmas en

mezclas de éter de petróleo:acetona y diclorometano:acetona. Las fracciones recolectadas se agruparon por su similitud en las características cromatográficas. Se determinó la actividad insecticida de las 11 fracciones recolectadas a través del método de contacto forzado, utilizando tres concentraciones previamente establecidas. La fracción II presentó buena actividad, por lo cual se decidió realizar una nueva separación cromatográfica. Se utilizó como fase estacionaria gel de sílice 60 y se eluyó con éter de petróleo, diclorometano y metanol. Se recogieron 13 fracciones y se reagruparon de acuerdo con el perfil cromatográfico obtenido por CCD. Se evaluó la actividad insecticida sobre *S. oryzae L.* de estas 13 fracciones, por el método de contacto forzado.

De acuerdo con los resultados de actividad insecticida, se procedió a purificar la subfracción G1 por cromatografía en columna, utilizando como fase estacionaria gel de sílice 60 y eluyendo con hexano y con mezclas de n-hexano:diclorometano. Se obtuvieron 4 fracciones G1-1, G1-2, G1-3, G1-4. Se probó la actividad insecticida por el método de contacto forzado.

Se procedió a evaluar la actividad insecticida de la fracción más promisoriosa, la G1-2, a través del método de ingestión a concentraciones de 500 y 1000 ppm.

Los grupos de compuestos presentes en esta fracción fueron caracterizados mediante técnicas cromatográficas, espectroscópicas y por espectrometría de masas.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA

Método del contacto forzado: Se utilizaron concentraciones de 1, 2.5 y 5% de los extractos en una mezcla de metanol:acetona (7:3). A cada una de las muestras se les adicionó 1 mL de diclorometano, se colocaron en la base de una caja de Petri, dejando evaporar el disolvente a temperatura ambiente;

posteriormente se depositaron 25 insectos adultos *S. oryzae* L. y se llevaron a una cámara de cría durante 100 horas; el conteo del número de insectos adultos muertos se realizó a las 3, 24, 48, 72, 96 y 100 horas. En todos los casos se utilizó un testigo absoluto en el cual se colocaron todos los elementos excepto el extracto.

Método de ingestión: Se utilizaron concentraciones de 500 y 1000 ppm usando como disolvente diclorometano. A 400 granos de maíz porva amarillo totalmente sanos, se les agregaron 300 mL de cada una de las concentraciones antes mencionadas. Se eliminó totalmente el disolvente. Los granos se colocaron en recipientes de vidrio y se depositaron 25 insectos adultos de *S. oryzae* L. Los recipientes se colocaron en la cámara de cría y se contaron los insectos muertos después de 3, 24, 48, 72, 96 y 100 horas (10).

La prueba se extendió durante dos meses, realizando lecturas cada 15 días y observando los estados de desarrollo: larva, pupa y adulto que pudieron haberse formado durante el ensayo, para lo cual se tomó al azar una muestra de 10 granos de maíz de cada unidad experimental. Los insectos sobrevivientes en esta última prueba se retiraron 30 días después de la aplicación de los tratamientos para esperar la emergencia o la no emergencia de los insectos adultos.

Las variables que se evaluaron fueron:

1. Porcentaje de mortalidad: Esta variable se evaluó por medio del conteo periódico de los insectos adultos muertos una vez aplicados los tratamientos.
2. Emergencia de adultos: 30 días después de aplicar los tratamientos, se procedió a retirar los progenitores de cada unidad experimental, con el propósito de tomar lecturas cada 15 días hasta completar el ciclo biológico de la progenie. Se tuvo en cuenta esta variable para establecer un posible efecto inhibitorio sobre el número de insectos emergidos en la F_1 , provocado por la fracción en prueba.
3. Porcentaje de reproducción: Las lecturas se realizaron cada 15 días durante 2 meses, después de aplicados los tratamientos. Se tomaron al azar 10 granos de maíz por cada unidad experimental como muestra representativa; se hicieron las lecturas del número de larvas, pupas y adultos sin emerger del grano, con el fin de comprobar el retraso y/o disminución en la reproducción del insecto, debido a la ingesta de la fracción en estudio.
4. Efectos teratogénicos: Se observó si se presentaba algún tipo de malformación sobre alguno de los estados de desarrollo del insecto, para lo cual se hicieron comparaciones con los testigos por medio del estereoscopio.
5. Repelencia de insectos: Se estableció una posible repelencia de los insectos hacia el grano tratado. Se hicieron observaciones del número de granos perforados; se realizaron lecturas cada 15 días durante dos meses sobre muestras representativas (10 granos de maíz tomados al azar de cada unidad experimental).
6. Número de granos sanos: Este dato se obtuvo a partir del número de granos perforados que se observaron en cada una de las unidades experimentales. Este ensayo se realizó con el fin de establecer la posible capacidad de protección de la fracción en estudio sobre los granos de maíz porva amarillo, contra el insecto.
7. Ensayo de germinación: Se determinó el efecto producido por los tratamientos sobre las semillas de maíz. Se siguieron las normas internacionales vigentes para ensayos de semillas del ISTA (11). Se midió el poder y el vigor germinativo de las semillas durante los 7 días del ensayo, bajo condiciones controladas: 95% de humedad relativa, 25°C de temperatura y completa oscuridad en un germinador.

El diseño estadístico que se utilizó fue al azar en arreglos factoriales y a los resultados obtenidos se les aplicó un análisis de varianza y la prueba de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSION

Por medio del proceso de extracción del material vegetal, se obtuvieron 322 g de extracto etanólico (16%) y 122 g del extracto de éter de petróleo (5.6%).

El extracto de éter de petróleo mostró la mayor actividad insecticida; a las 48 horas se presentó una mortalidad superior al 80%, en comparación con el extracto etanólico el cual mostró una mortalidad inferior al 20% en el mismo tiempo. La actividad insecticida se presentó a partir de las 24 horas de aplicado el extracto de éter de petróleo en las concentraciones de 1, 2.5 y 5%. A medida que aumentó el tiempo y las concentraciones de los extractos de éter de petróleo y etanol de *Ricinus comunis* L. se incrementó la mortalidad, siendo esta más marcada para el extracto de éter de petróleo en la concentración de 5%, llegando al máximo valor a las 72 horas (89%); en cambio el extracto etanólico al 5% presentó un valor máximo de mortalidad (60%) a las 96 horas.

La fracción II del extracto etéreo presentó actividad insecticida por el método de contacto forzado. A las 24 horas se presentó una mortalidad del 40% cuando se aplicó esta fracción en una concentración del 5% y llegó a su máximo valor a las 96 horas (98% de mortalidad).

La fracción G1 mostró mayor actividad frente al insecto, en las 3 concentraciones utilizadas. La actividad se presentó a las 24 horas de haberla aplicado en las concentraciones de 1 y 2.5%. La actividad insecticida más relevante sobre el insecto *S. oryzae*, la mostró el subgrupo G1 -2 en la concentración de 2.5% a las 24 horas (88% de mortalidad), llegando a su máximo valor (100%) a las 48 horas.

La mayor actividad de las fracciones G1-2 y G1-3 frente al gorgojo que ataca el café almacenado,

Araecerus fasciculatus (Coleóptera) en su estado de desarrollo adulto, se observó cuando la concentración fue de 2%; se destaca la mortalidad que presentó la fracción G1-2 que fue del 100% a las 48 horas.

Por este motivo se decidió evaluar, mediante el método de ingestión la fracción G1-2.

30 días después de la aplicación de la fracción G1-2 no había emergido ningún insecto en los granos tratados. Sin embargo, a los 45 y 60 días después de la aplicación, sí se presentó emergencia de adultos en cada una de las unidades experimentales.

La emergencia de insectos adultos en los granos tratados fue 45% menor que en los testigos, a los 60 días.

En lo relacionado con el porcentaje de reproducción, se presentaron diferencias significativas entre la fracción G1-2 y los testigos, probablemente por un efecto retardado en el ciclo reproductivo del insecto, debido a los compuestos presentes en la fracción en estudio.

No se observó ninguna deformación en los estados de desarrollo del *S. oryzae*, de huevo, larva, pupa y adulto, por la administración de la fracción G1-2.

Al medir el poder y vigor germinativo de las semillas tratadas con la fracción G1-2, se observó que la germinación se encuentra por encima del 93%, lo cual indica que a las concentraciones ensayadas no hubo efecto negativo a este respecto.

El análisis espectroscópico de las fracciones G1- G1 -2, G1 -3, G1 -4, indicó que están constituidas por ésteres metílicos y etílicos de ácidos grasos saturados ramificados y no ramificados, hidrocarburos saturados ramificados y una serie de ceras que van desde C₃₂ a C₄₁.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó dentro del programa de investigación "Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas Medicinales Colombianas", financiado por Colciencias y la Universidad Nacional de Colombia.

BIBLIOGRAFIA

1. C. Neves. Bol. Fac. Farm. Coimbra, 11(1), 51 (1987).
2. M.Q. Farah. Chem. Abs. 111 (25) 224996c, (1989).
3. M. Grainge, S. Ahmed "Handbook of Plants with Pest-control Properties", John Wiley, 1988.
4. O. Okoro, "Use of *Piper guineense* in protection of stored *Zea mays* against the Maize weevil". Fitoterapia LXII, (2), 179-182, (1991).
5. M. Mikayado, N. Ohno. J.Pestic. Sci., 105, 241 (1986).
6. O. Jiménez. Evaluación de la posible actividad insecticida de los extractos de *Cassia spectabilis* y de *Ricinus comunis L.* sobre *Sitophilus oryzae L.* en maíz almacenado. Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia (1990).
7. M. Farah. Chem. Abst., 111 (25) 2249966, (1989).
8. M. Jacobson, Lloydia, 38, 455 (1975).
9. F.W. Metzger, J. Econ. Entomology, 26, 299 (1933).
10. G. Camacho, Estudio fitoquímico y evaluación de la posible actividad insecticida de *Piper aduncum* y *Euphorbia cotinifolia*. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de Colombia.(1991).
11. A. de Marroquín, Memorias: Curso sobre producción y tecnología de semillas. Instituto Colombiano Agropecuario y Universidad Nacional de Colombia, (1974).