

Original

Actividad insecticida de extractos acuosos de hojas y corteza de *Trichilia hirta*

Insecticidal activity of aqueous extracts of leaves and bark of *Trichilia hirta*

M. Sc. Daramys Guerra Sánchez, Profesora Asistente, Universidad de Granma.

M. Sc. Dailé Cabrera Rodríguez, Profesora Asistente, Universidad de Granma.

M. Sc. Ana Luisa Figueredo Figueredo, Profesora Auxiliar, Universidad de Granma.

dguerras@udg.co.cu

Recibido: 23/06/2018- Aceptado: 17/07/2018

Resumen

La presente investigación fue realizada con el objetivo de evaluar la actividad insecticida de hojas y corteza de *Trichilia hirta* para el control de *Attainsularis*. El estudio abordó la determinación de principios activos involucrados en el sistema defensivo de las plantas, presentes en extractos elaborados a partir de partes no valoradas económicamente como hojas y cortezas. La determinación de familia de constituyentes en los extractos de plantas mediante el tamizaje fitoquímico a través del cual se corrobora la presencia de quinonas, alcaloides y coumarinas, reportados como responsables de la bioactividad de las plantas. Se comprueba que la corteza de la planta analizada posee actividad frente a los insectos evaluados.

Palabras clave: bioactividad; extracto; fitoquímico; insecticida; metabolitos; tamizaje.

Abstract

The present investigation was carried out with the objective of evaluating the insecticidal activity of leaves and bark of *Trichilia hirta* for *Attainsularis* control. The study addressed the determination of active principles involved in the defensive system of plants, present in extracts made from parts not valued economically as leaves and barks. The determination of family of constituents in plant extracts through phytochemical screening through which the presence of quinones, alkaloids and coumarins, reported as responsible for the bioactivity of plants is verified. It is verified that the bark of the analyzed plant possesses activity against the insects evaluated

Key words: bioactivity; extract; phytochemical; insecticide; metabolites; screening

Introducción

El control de plagas es la regulación y el manejo de algunas especies referidas como plagas, normalmente por tratarse de especies que afectan la salud de los habitantes, la ecología, la

economía, entre otras. Muchas plagas se convierten en reales problemas por la acción directa del humano. En ocasiones una modificación de estas acciones puede ser suficiente para controlar una plaga.

Un control convencional es probablemente el primero en ser empleado, ya que comparativamente es más barato y fácil (Figuroa, 2016).

Hoy en día el uso preferente de productos químicos para el control de las plagas es reemplazado por un nuevo enfoque que enfatiza el uso de prácticas simples y económicas que pueden ocasionar el menor daño posible a las personas y al medioambiente, en este sentido el uso de los insecticidas obtenidos a partir de partes vegetales tiene cada vez mayor aceptación en la población mundial.

El hecho es que las plantas son laboratorios naturales donde se biosintetiza una gran cantidad de sustancias químicas, razón por lo que se les considera la fuente de compuestos químicos más importante del planeta. Un gran porcentaje de los principios activos está comprendido dentro de los llamados productos naturales o metabolitos secundarios, que son compuestos químicos de estructuras relativamente complejas y de distribución restringida. Entre estos metabolitos son comunes aquellos con funciones defensivas contra insectos, bacterias, hongos, como son: los alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoides, cumarinas, quinonas, taninos y terpenoides. Se ha demostrado que existe gran variación en cuanto a la concentración de estos en la planta, no hay un patrón de máxima producción ni órganos especiales de almacenaje de metabolitos secundarios, sin embargo, lo común es que las mayores concentraciones de estos tipos de compuestos se encuentren en hojas, flores, semillas y cortezas (Figuroa, 2016).

La obtención de extractos, (para el control de plagas), en los que puedan estar presentes, determinados principios activos con posibles aplicaciones, desde el punto de vista medicinal, a partir de partes vegetales, no valoradas económicamente en el proceso de aprovechamiento forestal, de especies maderables, es aún, un camino largo por recorrer, que conduce, sin lugar a dudas, a elevar la sostenibilidad del bosque. Cuestión, a la que se le presta prioritaria atención, si se tiene en cuenta el rechazo mundial que tienen los productos sintéticos o químicos en el control de plagas por las reacciones adversas que provocan en los seres humanos, unido a la contaminación ambiental que genera su fabricación.

Otras de las ventajas del uso de estos extractos para el control de plagas son: el bajo costo para su obtención, no tienen efecto residual prolongado, se descomponen rápidamente y desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos, (Gracia, 2009).

De esta manera, los problemas como la contaminación del medio ambiente, los altos costos de producción y la resistencia por parte de los insectos fundamentales hacen que los fitoinsecticidas, no solo vuelvan a ser tomados en cuenta, sino que constituyen una importante bioalternativa para el control de insectos ofreciendo seguridad ecológica y una eficiente opción agronómica (Maggi, 2004)

POBLACIÓN Y MUESTRA

La especie *Trichilia hirta*, es seleccionada a partir del análisis de esencialidades elementales del saber fitoterapéutico tradicional, de los reportes de usos medicinales y maderables de diversos autores (Pereira, 2009) y (Petexbatun, 2010) de caracteres fotoquímicos comunes en especies de su misma familia botánica, estudiadas con anterioridad y conducentes a una posible acción insecticida de *Trichilia hirta* no evaluada científicamente hasta el momento. Para estos fines se consideraron las hojas y la corteza atendiendo a los reportes realizados.

Materiales y métodos

Recolección del material vegetal

Las partes vegetales (hojas y corteza de *Trichilia. hirta*), son colectadas en el mes de diciembre del año 2015 de un árbol en pie, en el área perteneciente a un productor independiente en la localidad de Peralejo, en las cercanías de la Universidad de Granma, en el municipio de Bayamo, provincia de Granma, a las 9:00 am hora de Cuba. A partir de los criterios de buenas prácticas de selección de plantas medicinales según (Abreu y Cuéllar, 2008).

La colecta se realiza bajo condiciones meteorológicas favorables (Día despejado con temperaturas alrededor de 28°C). Son observados detenidamente los caracteres morfológicos y se examina el estado de salud, la ausencia de agresiones mecánicas o deterioros por eventos naturales o producidos por enemigos naturales. Se seleccionan las hojas más extendidas y sanas, tomadas en el periodo óptimo al no encontrarse la planta en época de floración. El material vegetal se embala en bolsas de papel y se traslada hasta el Laboratorio de Botánica de la Universidad de Granma donde se identifica la especie por especialistas del área (EUROPAM - EHGA, 2006).

Preparación de los extractos acuosos

La elaboración de los extractos acuosos se desarrolla en el Laboratorio Forestal, de la Universidad de Granma. La desinfección tanto de las hojas como de la corteza parte de un lavado con una solución de hipoclorito de sodio al 2 % y agua destilada para eliminar impurezas. Luego se elimina el exceso de agua. En ambos casos, se toma una muestra al azar

de 500 g, los cuales se trituran hasta obtener una pasta fina, que es diluida en un litro de agua destilada. Dicha mezcla se agita cada 12 horas, y transcurridas las 24 horas se filtra, para obtener 1 000 ml de una disolución acuosa a una concentración masa/volumen (m/v) 50 % a partir de la cual se realiza el tamizaje fitoquímico (EUROPAM - EHGA, 2006).

Identificación de los grupos de metabolitos secundarios del extracto acuoso de *Trichilia hirta*

Para la determinación de diferentes compuestos del extracto acuoso se utiliza la metodología reportada por Sandoval y Suarez (1990); Payo, (2001) y Peña, (2002).

Identificación de especies de hormigas

Para identificar las especies de insectos se capturan especímenes correspondientes a las distintas castas para su posterior identificación en el laboratorio forestal con la ayuda de clave taxonómica (Kusnezov, 1956).

Diseño experimental

Según la metodología planteada por Ahmed *et al.*, (2011), se empleó un diseño de Bloques completamente al azar con tres tratamientos y tres réplicas, cada réplica, representada por la casta de las obreras a razón de 50 individuos para una relación de 150 por tratamientos para lo que se depositan cinco individuos adultos sobre un papel de filtro en el interior de cada frasco, se emplean diez frascos en cada una de las tres réplicas. Para un total de 30 frascos por tratamiento.

Determinación del efecto insecticida *in vitro*

La metodología utilizada para evaluar dicha actividad es, una adaptación de la citada por Mosquera (2014).

Se aplican tres tratamientos, los cuales están representados por los extractos acuosos de las hojas y la corteza y un control (agua): T1: Extracto acuoso de hojas de *Trichilia hirta*. T2: Extracto acuoso de la corteza de *Trichilia hirta*, T3: Control (Agua)

En la preparación de este experimento, se emplean 2 ml de cada uno de los tratamientos, para impregnar los papeles de filtro. Estos luego de ser sometidos a un proceso de secado natural, evitando la introducción de errores, impidiendo el contacto con la humedad, una vez conocida la sensibilidad de *Atta insularis* a este factor. Los papeles son colocados en el interior de cada frasco y sobre ellos se depositan los insectos exponiéndolos al contacto con los extractos secos.

Se establecen tres réplicas por tratamiento, constituyendo una unidad experimental cada frasco con diez insectos en su interior. Los intervalos de observación de mortalidad se realizan cada 1 h hasta tener la totalidad de los insectos muertos.

Como criterio de muerte: Se considera "muerto" el insecto carente de actividad locomotora propia, ya sea en forma espontánea o cuando es estimulado con un objeto (Mosquera, 2014).

Procesamiento estadístico de los datos

Se emplea la prueba de comparación múltiples de proporciones en el análisis del porcentaje de *Atta insularis*, que mueren según el tiempo (horas). Para comparar los tratamientos se emplea la prueba de comparación entre dos proporciones ($p < 0.05$). Se utiliza el paquete estadístico SPSS v.20

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Resultados del tamizaje fitoquímico de las hojas y la corteza

Con la intención de comprobar los resultados aportados por los ensayos anteriores y los descritos por Pereira (2009), se desarrolla la evaluación fitoquímica de las muestras vegetales colectadas. Se observa la presencia de saponinas, flavonoides, mucílagos, carbohidratos reductores, taninos y/o fenoles en el caso de las hojas como familias de metabolitos. En el caso de las hojas se observa la presencia de las mismas familias mencionadas, además de la presencia de alcaloides. Es importante destacar que en la evaluación de este extracto se detecta mayor presencia de flavonoides que en el extracto anterior como se muestra en la Tabla 1.

Según Menjivar (2001), los alcaloides poseen un efecto insecticida poderoso frente a la mayoría de insectos. Además las saponinas han sido empleadas para proteger seres humanos y otros animales contra insectos nocivos.

Por otra parte los flavonoides son considerados compuestos insecticidas de contacto e ingestión y repelente. En un estudio de las especies *Derris elliptica* y *Lonchocarpus utilis*, Fam. *Leguminosae*). Silva, (2002) plantea que su modo de acción implica una inhibición del transporte de electrones a nivel de mitocondrial. Por esto se dice que actúa inhibiendo el metabolismo del insecto. Los fenoles son el principio activo a los que se le atribuye la propiedad como repelente para diferentes ácaros probado en estudios realizados para evaluar dicha actividad. Por sus propiedades medicinales y toxicológicas. Se consideran grupos muy importantes para su estudio por las razones expuestas por Peña (2002).

Tabla 1. Resultado del tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos de las hojas y la corteza de *Trichilia hirta*.

El indica	Ensayo	Extracto acuoso de		Familias de Metabolitos	Leyenda: signo + la
		hojas de <i>Trichilia hirta</i>	corteza de <i>Trichilia hirta</i>		
	Mayer	-	+	Alcaloides	
	Espuma	+	+	Sapponinas	
	Shinoda	+	++	Flavonoides	
	Mucílago	+	+	Mucílagos	
	Feling	+	+	Carboidratos reductores	
	Cloruro de hierro III	+	+	Taninos y/o fenoles	

presencia de metabolitos, ++ indica mayor presencia de los metabolitos y el signo – la ausencia de metabolitos.

Cavalcante *et al.*, (2006) determinan que de cuatro especies de plantas evaluadas (*Prosopis juliflora*, *Myracrodruon urundeuva*, *Leucaena leucocephala* y *Caesalpinia ifolia*), las que causan mayor mortalidad son aquellas con mayor concentración de taninos. Según Pereira (2009), los taninos reducen significativamente el crecimiento y la supervivencia de insectos, al inactivar las enzimas digestivas y generar un complejo de tanino-proteína de difícil digestión.

El análisis comparativo de los metabolitos presentes en las partes vegetales evaluadas, permite comprobar que en ambos casos existe una amplia variedad de compuestos: La mayor parte de estos son comunes tanto en las hojas como en la corteza lo que puede interpretarse como, que ambas partes de la planta pueden estar involucradas en la acción defensiva de la especie. Al ser detectados compuestos como las familias de metabolito reportados como responsables del efecto insecticida de las plantas, los resultados alcanzados se consideran positivos y decisivos para la continuidad de la investigación, se puede inferir sobre una posible acción insecticida de las formulaciones evaluadas.

Al comparar los resultados que se obtienen con los reportados por Pereira (2009), puede apreciarse, al analizar los extractos acuosos de las hojas y la corteza de *Trichilia hirta*, una similitud en cuanto la presencia y ausencia de familias de constituyentes, lo que brinda una mayor confiabilidad de la prueba realizada.

Pereira (2009), evalúa además los extractos acuosos de las hojas y la corteza de la especie *Cedrela odorata* la cual pertenece a la misma familia botánica *Meliaceae*. Evidenciándose de manera similar amplia variedad de compuestos. Al comparar estos resultados con los obtenidos en la presente investigación se nota una ligera diferencia en cuanto a la presencia de alcaloides y mayor presencia de saponinas en el caso de las hojas de *Cedrela odorata* y en el caso de la corteza mayor presencia de alcaloides y de saponinas.

Resultados de la actividad insecticida *in vitro*

Se observa a partir de las tres horas los primeros indicios de mortalidad en el caso de los tratamientos de las hojas y la corteza, se detectan muertos tres individuos en el caso del T1 y cinco en el caso del T2. La cantidad de individuos muertos es en aumento con el transcurso del tiempo, se observa en las siguientes cuatro horas en el caso del T1 ocho muertes y siete en el del T2, a las cinco horas diez en el T1 y once en el T2.

A las seis horas 12 en el T1 y 18 en el T2. A las siete horas 17 en el T1 y 26 en el T2. En el último periodo de observación en el T1 se observan 25 y 40 muertes en el T2. Los valores totales de muertes en cada periodo de observación demuestran que el extracto acuoso de la corteza (T2) revela mayor efecto. La ocurrencia de las muertes puede estar asociada a la presencia de algunos metabolitos como los flavonoides.

Durante la observación puede comprobarse además, la emisión de una sustancia húmeda y aparentemente viscosa en el interior del frasco, lo que corrobora la acción de los extractos sobre los insectos, según lo planteado por algunos autores, estos organismos dentro de sus capacidades defensivas desprenden secreciones mandibulares y metapleurales como medidas asépticas para preservar su colonia. Indicando que los individuos evaluados evidentemente se sintieron amenazados, ya que la mencionada sustancia emitida a través de feromonios alerta al resto de la colonia sobre la presencia de peligro (Álvarez, 1997).

La aplicación del control (agua) no afecta en ninguna medida los individuos evaluados. Los experimentos permiten comprobar que durante las ocho horas evaluadas, la ocurrencia de 25 muertes para el caso del extracto acuoso de las hojas, lo que representa un 16,6 % de la totalidad de la muestra. Además de que la evaluación del extracto acuoso de la corteza mostró la ocurrencia de 40 muertes, lo que representa un 26,7 % de la totalidad de la muestra.

Aunque estos resultados muestran una acción insecticida por contacto leve, son considerados alentadores, debido a que en la constitución del extracto fue detectada mediante el tamizaje fitoquímico una mezcla de familias de metabolitos, que en su conjunto pueden tener un efecto antagónico capaz de disminuir la efectividad de los responsables de la mortalidad, por lo que la

investigación constituye un punto de partida para futuros estudios donde se identifiquen, el o los tipos de metabolitos responsables de la acción, para su posterior aislamiento y purificación en aras de obtener resultados superiores.

Al analizar los resultados del tamizaje fitoquímico se evidencia presencia de compuestos de incidencia en la acción insecticida de las plantas según Luna *et al*; (2007) en este caso flavonoides, taninos y fenoles. Por esta razón se infiere que estas familias de metabolitos pueden ser las responsables del efecto insecticida de la especie *Trichilia hirta* evaluado sobre *Attainsularis*.

Evaluación del comportamiento estadístico de la mortalidad de *Atta insularis* por tratamiento

La interacción entre los tratamientos en los tiempos de exposición evidencia diferencias significativas en cuanto a la mortalidad de *Atta insularis* (Tabla 2). La interacción del tratamiento dos a las ocho horas, registra el mayor valor de mortalidad manifestándose diferencia significativas respecto al el resto de los tratamientos evaluados. Seguido de las interacciones de los tratamientos, dos a las siete horas y no a las ocho horas, los que no se diferencian entre sí, pero si con el resto de los tratamientos.

Los tratamientos dos a las seis horas y uno a las siete horas, uno a las seis horas y uno a las cinco horas, no muestran diferencias significativas entre sí, sin embargo entre los tratamientos, uno a las cuatro horas, dos a las cinco horas, dos a las cuatro horas, dos a las tres horas y uno a las tres horas, mostraron diferencias significativas, finalmente no se evidencia mortalidad entre las interacciones de los tratamientos uno y dos en las primeras dos horas y en todas las horas del tratamiento tres. En este periodo se puede decir que este resultado negativo se presenta debido al hecho de evaluar un producto de origen vegetal. Estos productos generalmente no presentan un efecto letal a corto plazo, según lo planteado por Silva et al., (2002) al abordar las desventajas de los insecticidas vegetales. El autor argumenta que no todo estos tipos de productos son insecticidas sino que muchos son insectistaticos lo que los hace tener una acción más lenta y no inmediata.

Tabla. 2 Estadística del comportamiento de la mortalidad de *Atta insularis* por tratamiento

Tratamientos	Observaciones (h)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
T1. E Hojas	0,0g	0,0g	0,11g	0,23cde	0,29bcd	0,29bce	0,30bc	0,42c
T2 E. Corteza	0,0g	0,0g	0,18ef	0,21de	0,31b	0,31b	0,43c	0,54a

T3 Agua	0,0g							
----------------	------	------	------	------	------	------	------	------

Leyenda: T1 tratamiento uno (Extracto acuoso de hojas), T2, tratamiento dos (Extracto acuoso de corteza), T3 Tratamiento tres (Agua)

El efecto del tratamiento uno y dos representado por los extractos acuosos de las hojas y la corteza muestran un efecto directamente proporcional al tiempo de exposición con el producto impregnado en el papel de filtro depositado en el interior de los frascos.

Conclusiones

1. El tamizaje fitoquímico corrobora la presencia de alcaloides, saponinas, flavonoides, mucílagos, carbohidratos reductores, taninos y/o fenoles en el extracto acuoso de las hojas y corteza de *Trichilia hirta*.
2. Los extractos acuosos de hojas y corteza presentan actividad insecticida frente a *Atta insularis*, en condiciones *in vitro*, mostrando la corteza mayor efectividad.

Referencias bibliográficas

1. Abreu, G.O y Cuéllar, C.A, (2008) Estrategia para la selección de las plantas medicinales a investigar. Rev. Cubana Plant. Med13(3) 5-10pp Extraído el 15 de septiembre 2016 desde http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000300009
2. Ahmed, S., Zafar, M.I., Hussain, A., Riaz, M.A Y Shahid, M. (2011) Evaluation of plant extracts on mortality and tuneliting activities of subterreanean termites in Pakistan.Extraído el 12 de enero de 2018 desde <http://cdn.intechopen.com/pdfs>.
3. Cavalcante, G., A. Carrano& S. Dias. (2006). Potencialidades insecticida de extratosaquosos de esencias flores sobre mosca-branca. Pesq. Agropec. Bras. 41: 9-14 pp.
4. EUROPAM – EHGA (2010). Buenas prácticas agrícolas para plantas aromáticas y medicinales.Extraído el 3 de diciembre de 2017 desde <http://bpa.peru-v.com/bpaaromaticasmedicinales.htm>.
5. Figueroa, R. L. (2016). Implementation of a training model in Integrated Pest Management (IPM) to agricultural producers in the community Puerto La Madera, municipality of Sucre, State of Sucre, Venezuela. Tesis presentada en opción al Título académico de Master en Agroecología y Agricultura Sostenible. Universidad Politécnica Territorial del Oeste de Sucre Rev. Protección Veg. Vol. 31 No. 2.

6. García, F.M. (2009). Indagan en los usos farmacéuticos de las especies forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Facultad de Ciencias Forestales. Extraído el 12 de enero de 2017 desde [@infoUniversidades](#).
7. Kusnezov, H. (1956). Ochos años en Sud America. Folia Univ. Cochabamba 8:45-93 Claves para la identificación de las hormigas de la fauna argentina. Extraído el 11 de junio de 2018 desde <https://books.google.com/cu/books?isbn>.
8. Luna, A.V., Flores L.P. y Sobac, R.D. (2007) Biomoléculas con actividad insecticidas: Una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. Extraído el 10 de mayo de 2016 desde <http://www.redalib.org/articulo>.
9. Maggi, J. R. (2004). Concentraciones de metabolitos en partes vegetales. Acciones defensivas de las plantas. Extraído el 14 de diciembre del 2017 desde <http://www.compuestosmetabolicos.dufb.cp/alcanea/produce/basical.htm>.
10. Mosquera, O.M. (2014) evaluación de la actividad insecticida in vitro del extractos vegetales contra la broca del café. Extraído el 14 de junio de 2018 desde <http://web.catie.ac.cr/información/RFCA/rev58/rna58Art6> Pag 45-50 PDF
11. Payo, A. (2001). Tamizaje Fitoquímico del *Croteun* L. Revista Cubana de Farmacia 35(3): 78-84. Extraído el 3 de diciembre de 2017 desde Extraído el 7 de diciembre de 2017 desde http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962011000400004.
12. Peña, R. (2002). Algunas consideraciones sobre el empleo de productos naturales en la medicina natural y tradicional. Monografía. Centro de estudio de química Aplicada. Universidad de Granma. Bayamo, Cuba.
13. Pereira, C. S; Vega, T. D; Almeida, S.M; Morales, T. G (2009) Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta* L. Revista Química Viva Número 3, Extraído el 18 de abril 2018 desde www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar, quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
14. Petexbatun, (Gt. 2010). Sistemas Forestales Ecológicos. Uso de la madera de Caoba. Extraído el 10 de marzo de 2018 desde www.sifoeco.com.mx/particular/usos.html
15. Sandoval, D y Suárez, O. (1990). Estudio Fitoquímico preliminar de detección de alcaloides y saponinas en plantas que crecen en Cuba. Revista Cubana de Farmacia, 24(2):288-296. . Extraído el 3 de diciembre de 2017 desde <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-93403?lang=es>