

Original

Análisis fitoquímico y actividad insecticida *in vitro* de extracto acuoso de *Agdestis Clematidea* en el manejo de *Myzus Persicae*.

Phytochemical analysis and *in vitro* insecticide activity of the watery extract of *Agdestis clematidea* in the handling of *Myzus persicae*.

MSc. Dany Maikel Sariol Sánchez, Profesor asistente, Universidad de Granma,
dsariols@udg.cu.co, Cuba

Ing. Diana Rosa Aponte Rodríguez, Profesor en adiestramiento, Universidad de Granma,
daponter@udg.co.cu, Cuba

Dr. C. Luis Guillermo Hernández Montiel, Investigador titular, Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste de Baja California, Sur México, lhernandez@cibnor.mx, México.

Recibido: 11/09/2018 Aceptado: 2/02/2019

Resumen

El presente trabajo fue realizado en los laboratorios de los Centros de Estudio de Química Aplicada, de la Universidad de Granma. El cual contó con dos etapas, una que consistió en confirmar científicamente que los extractos de la planta *Agdestis clematidea* (boniato apestoso), que se utiliza de forma tradicional en el manejo de insectos, contiene metabolitos secundarios con actividad insecticida, y otra donde fue evaluado la acción insecticida del extracto acuoso en la regulación de poblaciones de pulgón verde (*Myzus persicae*). La planta fue colectada en la localidad de Troya, Manzanillo, Granma, e identificada por especialistas del laboratorio de Botánica de la Universidad de Granma, el órgano de la planta utilizado fue el tubérculo, del cual se obtuvo el extracto acuoso. Al mismo se le realizó el tamizaje fitoquímico, el cual permitió constatar que en el extracto de la planta, existe la presencia de varias familias de metabolitos secundarios de interés biológico, como: Alcaloides, Saponinas, Aminoácidos libres y Coumarinas. Luego se realizaron ensayos en el laboratorio para medir la actividad insecticida y/o repelente, se utilizaron diferentes concentraciones de extractos, 30 %, 45 %, 60 % y 75 % y se determinó la efectividad técnica, lográndose demostrar el efecto insecticida y repelente, evidenciando esto la posibilidad de utilizar extracto acuoso del boniato apestoso en el manejo de la población de *M. persicae*.

Palabras clave: agdestis clematidea; myzus persicae; tamizaje fitoquímico; extracto acuoso

Abstract

The present work was carried out in the laboratories of the Centers of Study of Applied Chemistry, of the University of Granma. Which had two stages, one that consisted on confirming scientifically that the extracts of the plant *Agdestis clematedea* (Boniato apestoso) that is used in a traditional way in the handling of insects, it contains secondary metabolites with insecticide, and other activity where the insecticide action of the watery extract was evaluated in the regulation of populations of green plant louse (*Myzus persicae*). The plant was collected in the town of Troya, Tree, Granma, and identified by specialists of the laboratory of Botany of the University of Granma, the organ of the used plant was the tuber, of which the watery extract was obtained. To the same one he/she was carried out the phytochemical analysis, which allowed to verify that in the extract of the plant, the presence of several families of secondary metabolites of biological interest exists, as: Alkaloids, Saponins, free Amino acids and Coumarinas. Then they were carried out rehearsals in the laboratory to measure the insecticide and/or repellent activity, different concentrations of extracts were used, 30%, 45%, 60% and 75% and the technical effectiveness was determined, being able to demonstrate you the insecticide and repellent effect, evidencing this the possibility to use watery extract of the stinking sweet potato in the handling of the population of *M. persicae*.

Key words: *Agdestis clematedea*, *Myzus persicae*, phytochemical analysis and watery extract.

Introducción

Las plantas han desempeñado un papel fundamental en la vida del hombre, quien las ha utilizado desde los inicios de la especie humana para suplir necesidades básicas como alimento, medicina, vivienda, vestido, control de las plagas, entre otros usos (Schmidt *et al.*, 2007). Como consecuencia de los 400 millones de años de coevolución entre herbívoros y plantas, en estas ocurrió un proceso de selección durante el cual se han desarrollado “defensas” químicas que funcionan como barreras contra los herbívoros dificultando el consumo de las plantas por los insectos (Futuyma y Keese, 1992).

Las plantas producen sustancias de bajo peso molecular conocidas como metabolitos secundarios. Estos son normalmente no esenciales para el proceso metabólico básico de la planta (Ducrot, 2005). Actualmente se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas (Jacobson, 1989). Las mismas al tener sus propios mecanismos para protegerse, y en condiciones favorables, estos son suficientes para luchar contra sus enemigos (plagas y enfermedades), los cuales no atacan a las plantas al azar sino a las que no son capaces de luchar contra ellas.

La lucha contra las plagas agrícolas constituye una de las principales preocupaciones de la mayoría de los agricultores, no solamente por las afectaciones y pérdidas ocasionadas por estos organismos, sino por los costos de las medidas de control y las limitaciones que se producen para la comercialización de los productos agrícolas (Vázquez, 2010).

Entre los principales insectos plagas de los cultivos se encuentra el pulgón verde que tienen un gran número de plantas hospedantes y su carácter dañino se presenta fundamentalmente en los brotes tiernos y vigorosos (Flores, 2009), donde chupan la savia, causando un daño que puede ir desde amarillamiento y encrespamiento de las hojas, debilitamiento de las plantas y muerte.

Más importante que el daño directo por succión de la savia, se presenta el daño indirecto, invisible en el momento de la infestación, por transmisión de virus en muchos cultivos. La intensidad del ataque varía según el daño y las pérdidas pueden alcanzar hasta un 20 % (Ricci *et al.*, 2006).

Es necesario imponerse nuevas formas de gestión que reformulen los mandamientos de la agricultura tradicional y que garanticen la sostenibilidad agrícola. Entre las vías empleadas para reducir el uso de plaguicidas sintéticos en el manejo de plagas se encuentra el estudio de las propiedades de diferentes plantas.

Los insecticidas naturales a partir de extractos vegetales constituyen una interesante alternativa de control de insectos, teniendo en cuenta que se han evaluado científicamente muy pocas plantas en relación a la fuente natural que ofrece el planeta y otras siguen vigentes por leyenda popular, por lo que las perspectivas futuras de investigación, son aún mayores a partir de la necesidad de encontrar una nueva alternativa natural para el manejo de insectos plagas y reemplazar así los plaguicidas sintéticos, apareciendo los insecticidas botánicos que ofrecen seguridad para el ambiente y son una eficiente opción agronómica (Medina, 2001). De hecho, existen plantas que han mostrado tener excelentes resultados encontrándose ya en el mercado formulaciones comerciales.

Teniendo en cuenta las razones antes expuestas se trabaja en la búsqueda de nuevas alternativas que permitan el control de plagas en los cultivos de interés económico por lo que se plantea el siguiente problema científico: La alta incidencia de pulgón verde (*M. persicae*) en cultivos de interés económico provocan reducción en el desarrollo de las plantas y por consiguiente la disminución del rendimiento.

Para dar solución a este se asume como hipótesis: La confirmación de la existencia de sustancias con propiedades insecticidas y/o repelentes en la planta de *A. clematidea*, propicia

la utilización de esta especie como alternativa de manejo de *M. persicae* al disminuir sus poblaciones y daños a los cultivos.

El artículo tienen como objetivo general evaluar el efecto insecticida y/o repelente del extracto acuoso de *A. clematidea* en la regulación de las poblaciones *M. persicae* en cultivos de interés económico y de manera específica identificar los grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso del tubérculo en base húmeda de *A. clematidea* mediante el desarrollo de tamizaje fitoquímico y determinar en condiciones de laboratorio el efecto insecticida y/o repelente del extracto acuoso de *A. clematidea* sobre *M. persicae*.

Población y muestra

Preparación del extracto acuoso de *A. clematidea*.

Para la preparación del extracto acuoso se tomaron tubérculos de boniato apestoso, se lavaron, para eliminar todos los restos de suelos e impurezas, y se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 2 %, luego se eliminó el exceso de agua y se tomó una muestra al azar de 500 g, los cuales se trituraron hasta obtener una pasta fina, la cual se diluyó en un litro de agua destilada. Dicha mezcla se agitó cada 12 horas, y transcurridas las 24 horas fue filtrada, para obtener 1000 ml de una disolución acuosa a una concentración masa/volumen (m/v) 50 %.

Identificación de los grupos de metabolitos secundarios del extracto acuoso de A. clematidea.

Para la determinación de diferentes compuestos del extracto se utilizó la metodología reportada por Sandoval y Suárez (1990), Payo, (2001) y Peña, (2002), se realizaron dos soluciones una acuosa y otra etanólica, realizándole los siguientes ensayos:

- ✓ Ensayo de Espuma (saponinas)
- ✓ Ensayo de Fehling (carbohidratos reductores)
- ✓ Ensayo de Shinoda (flavonoides)
- ✓ Ensayo de Cloruro férrico (fenoles y/o taninos)
- ✓ Ensayo de Dragendorff y Mayer (alcaloides)
- ✓ Ensayo de Principios amargos
- ✓ Ensayo de mucílagos.

Estudio en condiciones de laboratorio de la actividad insecticida y repelente.

Actividad insecticida

Para la determinación de la actividad insecticida se realizaron ensayos preliminares en el laboratorio, para lo cual fue necesario la colecta de ejemplares adultos de la plaga, los cuales fueron identificados por especialistas. La metodología utilizada para evaluar dicha actividad fue

una adaptación de la citada por Vargas, (2005). Se aplicaron 4 tratamientos, los cuales estaban representados por las diferentes concentraciones del extracto acuoso y un control (agua).

T1: Extracto acuoso al 30 % de *A. clematidea*.

T2: Extracto acuoso al 45 % de *A. clematidea*.

T3: Extracto acuoso al 60 % de *A. clematidea*.

T4: Extracto acuoso al 75 % de *A. clematidea*.

T5: Control.

Estos extractos fueron obtenidos a partir de una disolución madre a una concentración (m/v) del 50 %, de la cual se depositaron en una probeta 30 ml, 45 ml, 60 ml y 75 ml, se completaron con agua destilada cada uno hasta aforar los 100 ml quedando a las concentraciones deseadas para la aplicación.

Se asperjaron 2 ml de la solución en las diferentes concentraciones del extracto acuoso del tubérculo de *A. clematidea* sobre los insectos, los cuales estaban dentro de placas Petri de 150 mm de diámetro con papel de filtro colocado en la base de cada una.

Se establecieron 5 réplicas por tratamiento, constituyendo cada placa Petri una unidad experimental, con 20 individuos adultos del insecto cada una.

Los ensayos fueron mantenidos bajo condiciones ambientales normales. Los intervalos de observación de mortalidad se realizaron a las 12 h, 24 h, 36 h y 48 h. Durante este período los insectos fueron alimentados con hojas de plantas de pimiento.

Teniendo en cuenta que muchos insecticidas producen una gama de efectos que van desde la incoordinación hasta el volteo, pasando por una serie de etapas intermedias que hacen muy difícil el diagnóstico "vivo o muerto". En aras de calificar estos insectos afectados y unificar el diagnóstico se consideró el siguiente criterio de muerte: Se consideró "muerto" el insecto que no tiene actividad locomotora propia, ya sea en forma espontánea o cuando es estimulado con un objeto, calculando entonces la efectividad técnica.

Efectividad Técnica (ET):

$$ET = \frac{P - P_1}{P} * 100$$

Donde:

P – Cantidad de organismos vivos antes del tratamiento.

P₁ - Cantidad de organismos vivos después del tratamiento.

Actividad repelente

En este caso se siguió la metodología planteada por Arias & Schmeda- Hirschmann, (1988) citada por Parra *et al.*, (2007), con modificaciones. Se depositaron 20 individuos adultos sobre un papel de filtro en la base de una placa Petri, de forma desordenada y por toda el área, luego se colocaron 3 gramos de algodón embebidos en 2 ml del extracto acuoso en las diferentes concentraciones, en un extremo de la placa. Se utilizaron cinco placas para cada concentración del extracto acuoso.

Las condiciones ambientales y de alimentación fueron similares al ensayo de la actividad insecticida, así como, la frecuencia de las mediciones. En este caso no se utilizó control. Se tomó el siguiente criterio de repelencia: Cuando más del 50 % de los individuos estén a una distancia mayor a la mínima aceptada, siendo considerada como distancia mínima aceptable el radio de la placa (75 mm).

Análisis de los resultados

Tamizaje fitoquímico del extracto obtenido de A. clematidea

Los resultados del tamizaje de los extractos acuoso y etanólico a partir del tubérculo de *A. clematidea* (boniato apestoso) para la determinación de los diferentes compuestos secundarios se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización fitoquímica de los extractos del tubérculo de *A. clematidea*.

Ensayos	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Fehling (Carb. Reductores)	-	-
FeCl ₃ (fenoles/taninos)	+	-
Mayer (Alcaloides)	+++	+++
mucílago (Polisacáridos)	-	
Espuma (Saponinas)	+	-
Resinas		-
Nihidrina (Aminoácidos libres)	+	+
Libermann-Burchard (Triterpenos y/o Esteroides)		-
Baljet (Coumarinas)		+
Shinoda (Flavonoides)		-
Bortrager (Quinonas)		-

Antocianidina		-
Principio amargo	-	-

Leyenda: (-) ausencia, (+) presencia y (+++) abundante

Es evidente que resultaron ser los más destacados según los resultados del tamizaje fitoquímico en ambos extractos los correspondientes al alto contenido de alcaloides, seguido del contenido de aminoácidos libres. En el caso del extracto acuoso se determinó también la presencia de saponinas y fenoles y las cumarinas en el extracto etanólico.

Existen factores que pueden influir en la composición y concentración de los metabolitos secundarios presentes en las plantas tales como: familia, especie, época del año, madurez fisiológica, zona climática, momento de recolección del material vegetal, solubilidad en el solvente empleado, entre otras (Peña, 2002). Siendo estos factores determinantes en la actividad insecticida, repelente y/o antialimentaria de los extractos naturales de las plantas, evidenciado así su uso o no en el control de diferentes plagas en la agricultura.

Los resultados anteriormente expuestos coinciden y difieren en cierta medida con los obtenidos por Velásquez, (2012), quien realizó dos tamizaje del tubérculo, uno a partir de extracciones sucesivas de la droga seca, utilizando (n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua), y otro utilizando material fresco con tres solventes distintos (éter de petróleo, etanol y agua), existiendo similitud en la presencia de Aminoácidos libres, Alcaloides, Saponinas y Cumarinas. Pero aún cuando existen semejanzas en su presencia cabe destacar la diferencia en lo referente a la concentración de Alcaloides. Si bien existe coincidencia en los resultados alcanzados cabe señalar también la existencia de diferencias en la presencia de algunos compuestos en los extractos del tubérculo tales como: Carbohidratos reductores, Flavonoides, Ácidos grasos y fenoles.

A juicio de los autores, es preciso señalar que la existencia de diferencias en estos resultados está dado por los solventes usados, la metodología empleada, algún error sistemático en los ensayos o por la inactivación de enzimas por el secado del material vegetal y/o la aplicación de calor durante la preparación de los extractos tal como lo plantea Kim *et al.*, (2006) para *P. alliacea*, la cual pertenece a la misma familia de la planta en estudio. Además de otros elementos muy específicos de la planta o de los factores medioambientales señalados anteriormente.

Efecto del extracto acuoso de A. clematidea sobre M. persicae en condiciones de laboratorio.

Los resultados de la evaluación de la acción insecticida y/o repelente del extracto acuoso a partir del tubérculo de *A. clematidea* (boniato apestoso) para el manejo de *M. persicae* en condiciones de laboratorio se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Actividad repelente e insecticida del extracto de tubérculos de *A. clematidea* en el manejo de *M. persicae*.

Tratamientos	Actividad insecticida		Actividad repelente	
	Número de individuos muertos	Efectividad técnica	Número de individuos repelidos	Efectividad técnica
T1 (20 ml al 30%)	5,25 ^b	26,25	6,08 ^c	30,41
T2 (20 ml al 45%)	15,91 ^a	78,33	12,91 ^b	64,16
T3 (20 ml al 60%)	16,16 ^a	79,58	15,33 ^a	76,66
T4 (20 ml al 75%)	16,50 ^a	82,50	16,58 ^a	82,91
T5 (control)	2,83 ^b	14,16	4,08 ^d	20,41
EE	0,882	0,882	0,689	3,443

Medias con letras desiguales en las columnas, difieren significativamente para la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,01$).

Se demuestra el efecto repelente del extracto acuoso del *A. clematidea* contra *M. persicae* en todas las concentraciones empleadas, destacándose las tres mayores concentraciones con una efectividad técnica de repelencia por en sima del 50%. De igual manera, quedó demostrada la actividad insecticida, con resultados muy similares que en el ensayo de repelencia, lográndose los mejores resultados en las tres mayores concentraciones, donde la efectividad técnica oscila entre 78 % y 83 %. Se hace evidente que esta planta tiene efecto repelente e insecticida contra *M. persicae*.

Los resultados evidencian el efecto del extracto de *A. clematidea* como repelente contra *M. persicae* lo cual puede estar dado por la acción de algunos compuestos químicos del

metabolismo secundario de esta planta como alcaloides, cumarinas entre otros (Frazier y Chyb, 1995), los cuales han sido informados por otros autores por su acción contra insectos.

Si se tiene en cuenta que el efecto insecticida y repelente de un extracto provoca la reducción de la plaga. Entonces, estos resultados justifican la posibilidad del uso de *A. clematidea* como una nueva alternativa de manejo de *M. persicae* ya que al aplicarse determinadas concentraciones de extracto acuoso de *A. clematidea* se pueden reducir las poblaciones de dicha plaga.

Muchos investigadores han usado diferentes extractos de plantas para controlar estas plagas como por ejemplo Castresan *et al.*, (2013) al evaluar la efectividad de tres aceites esenciales para el control de áfidos en pimiento, los resultados mostraron que tratamientos con aceite esencial de ajo (*A. sativum*) + aceite vegetal de soja (*R. officinalis*) y aceite esencial de Eucalipto (*E. globulus*) + aceite vegetal de soja, modificaron el comportamiento de los áfidos, registrándose un menor número de individuos evaluándose la acción repelente.

Los resultados obtenidos en nuestra investigación superan a los alcanzados por Ricci *et al.*, (2006) en un estudio realizado para evaluar la actividad repelente del aceite esencial de lemongrass (*Cymbopogon citratus* S.) sobre el pulgón ruso (*Diuraphis noxia* K.) en trigo (*Triticum aestivum* L.), formulando el aceite esencial en una solución acuosa, utilizando dos técnicas de aplicación: impregnación de papeles y pulverización directa, donde obtuvo un porcentaje de repelencia de 66,07 y 74,33 % para pulverización e impregnación de papeles, respectivamente.

Conclusiones

1. Mediante el tamizaje fitoquímico se identificaron diversas familias de metabolitos secundarios en el tubérculo de *A. clematidea* tales como: fenoles, cumarinas, saponinas, aminoácidos libres y con mayor abundancia alcaloides.
2. El extracto acuoso de *A. clematidea* a las concentraciones 30%, 45%, 60% y 75% tiene efecto positivo en el manejo de las poblaciones de *M. persicae*, alcanzando los mayores resultados cuando se aplicaron las concentraciones al 45%, 60% y 75 %.

Referencias Bibliográficas

Castresan J., Rosenbaum J., González L., (2013) Estudio de la efectividad de tres aceites esenciales para el control de áfidos en pimiento, *Capsicum annuum*

- L. Idesia* vol.31 no.3 Arica oct. Disponible http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-34292013000300007&script=sci_arttext. Consultado 20 de noviembre del 2016.
- Ducrot, P.H. (2005). Organic Chemistry's contribution to the understanding of biopesticide activity of natural products from higher plants. pp. 47–58.
- Flores C. J. (2009). Agricultura Ecológica, manual y guía didáctica. Protección de cultivos: principios fundamentales de control de plagas, enfermedades y malas hierbas. Ediciones Mundi-Prensa p 217-266.
- Frazier, JL; Chyb, S. (1995). Use of feeding inhibitors in insect control. In Regulatory mechanisms in insect feeding. New York, Chapman & Hall. p. 364-381.
- Futuyma, DJ; Keese, MC. (1992). Evolution and coevolution of plants and phytophagous arthropods. In Rosenthal Berenbaum, MR. Eds. Herbivores, their interactions with secondary plant metabolites. New York, Academy Press.p.440-447.
- Jacobson, M. (1989). Botanical pesticides: past, present and future. pp. 1–10
- Kim S, Kubec R, Musah RA. (2006). Antibacterial and antifungal activity of sulfur-containing compounds from *Petiveria alliacea* L. *J Ethnopharmacol.*; 104: 188-192.
- Medina, N. (2001). Uso de extractos botánicos en control de plagas y enfermedades. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 59, 76–77.
- Parra H. G., García P. M. & Cotes T.J. (2007). Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae). *Boletín de Malariología y Salud Ambiental* versión impresa ISSN 1690-4648 Bol Mal Salud Amb v.47 n.1 Maracay enero.
- Payo, A. (2001). Tamizaje Fitoquímico del *Croteun* L. *Revista Cubana de Farmacia* 35(3): 78-84.
- Peña, R. (2002). Algunas consideraciones sobre el empleo de productos naturales en la medicina natural y tradicional. Monografía. Universidad de Granma. Bayamo, Cuba.
- Ricci, M., Padín S., Ringuélet J., Kahan A. (2006) Utilización de Aceite Esencial de Lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) Como repelente de *Diuraphis noxia* Kurdj. (Hemiptera: Aphididae) en Trigo. *Agric. Téc.* v.66 n.3 Chillán. Disponible en http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072006000300004. Consultado 13 de enero del 2016.
- 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.

- Schmidt, B.; Ribnicky, D.; Lipsky, P. & Raskin, I. (2007). Revisiting the ancient concept of botanical therapeutics. *Natural Chemical Biology* 3, 360–366.
- Vargas A. G. (2005). Especies vegetales de la amazonía peruana: prospección y evaluación del efecto insecticida sobre plagas primarias. Universidad Científica del Perú – Centro de Investigación.
- Vázquez, L. (2010). Manejo de plagas en la agricultura ecológica. *Boletín fitosanitario*. Volumen 15, No. 1, La Habana, Cuba.
- Velázquez Y (2012). *Tamizaje fitoquímico de Agdestis clematidea Moç. et Sessé ex DC.* Trabajo de diploma. Universidad de Granma.